MIKROCHEMIE

VEREINIGT MIT

MIKROCHIMICA ACTA

SCHRIFTLEITUNG:

A. A. BENEDETTI-PICHLER
NEW YORK

F. SCHNEIDER
NEW YORK

M. K. ZACHERL
WIEN

BAND XXXIV, DRITTES HEFT
MIT 38 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 15. JUNI 1949

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1949

Mikrochem.

Die Zeitschrift

„Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen. Diese Hefte werden zu Bänden von 20—25 Bogen vereinigt. Der Preis eines Heftes richtet sich nach seinem Umfang und nach den entstandenen Herstellungskosten. Für Lieferungen in das Ausland gelten Auslandspreise.

In der Regel können Originalarbeiten (in deutscher, englischer oder französischer Sprache) nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als einen Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen.

Die für die Zeitschrift bestimmten Manuskripte sind zu senden

an die Schriftleitung der „Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"
(Springer-Verlag), Wien I, Mölkerbastei 5.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Jahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Es können somit grundsätzlich nur Arbeiten aufgenommen werden, die vorher weder im Inlande noch im Auslande veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen sich der Verfasser verpflichtet.

Die Verfasser erhalten eine *Fahnenkorrektur;* Revisionen können grundsätzlich nicht geliefert werden. Bei Beiträgen von in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeitern werden die Korrekturen dieser Beiträge im Interesse eines beschleunigten Erscheinens von der Schriftleitung gelesen. Wird jedoch die Übersendung von Fahnenabzügen zur Korrektur gewünscht, so muß die sich daraus ergebende spätere Veröffentlichung von dem Verfasser in Kauf genommen werden.

Die Verfasser erhalten von ihren Abhandlungen 75 Sonderdrucke unentgeltlich. Weitere 125 Exemplare werden, falls rechtzeitig bei Rücksendung der Korrektur bestellt, gegen angemessene Entschädigung geliefert.

Die Manuskripte sollen in klarer Ausdrucksweise und unter Hinweglassung jedes überflüssigen Ballastes abgefaßt sein. Von Abbildungen ist sehr sparsamer Gebrauch zu machen, da sie die Drucklegung der Beiträge verzögern und auch den Preis der Zeitschrift verteuern. Die Vorlagen für Abbildungen sind auf besonderen Blättern erwünscht und können entweder in Reinzeichnungen (Beschriftung nur in Bleistift ausführen) oder in klaren verständlichen Handskizzen bestehen. Die Beschriftung und nötigenfalls die Reinzeichnung nimmt der Verlag vor.

Springer-Verlag, Wien I, Mölkerbastei 5

Fernsprecher: U 26-5-60 Serie — Telegrammadresse Springerbuch Wien

XXXIV. Band — Inhaltsverzeichnis — 3. Heft

Seite

Poe, Charles F., Norman F. Witt, and Allan S. Snodgrass. Derivatives of Evipal, Alurate, and Phanodorn 235

Benedetti-Pichler, A. A. Suggestions to the Calibration of Weights 241

Fischer, R. und L. Chalupa. Zum Nachweis narkotisch wirkender Substanzen in biologischem Material 257

Flaschka, H. und H. Spitzy. Die gravimetrische und maßanalytische Mikrobestimmung von Kalzium mit Cyanoferrat(II)-Ion..... 269

Leipert, Th. Über die Hypobromitmethode zur Schnellbestimmung des Reststickstoffs 276

Beck, G. Bestimmung des Scandiums mit Chinalizarin und über die Beziehungen des Scandiumpyrophosphates zum Scandiumphytat 282

Erdos, J. Ein Verfahren zur Mikro-Schwefelbestimmung 286

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

College of Pharmacy and Department of Chemistry University of Colorado, Boulder, Colorado.

Derivatives of Evipal, Alurate, and Phanodorn.

An Optical Crystallographic Study

by

Charles F. Poe, Norman F. Witt, and Allan S. Snodgrass.

(Received January 14, 1949.)

Introduction.

In previous studies reported from this laboratory, the optical-crystallographic properties of benzyl derivatives of barbital, phenobarbital,[1] amytal, pentobarbital, dial,[2] ipral, neonal, nostal, and sandoptal[3] have been reported. Since chemical tests are not entirely satisfactory for the identification of the derivatives of barbituric acid, the optical-crystallographic study has been extended to include three additional barbiturates: evipal (1,5-dimethyl-5-Δ-cyclohexenyl barbituric acid), alurate (5-allyl-5-isopropyl barbituric acid), and phanodorn (5-cyclohexenyl-5-ethyl barbituric acid). The preparation of the derivatives included in this investigation has not been reported in the literature with the exception of the para-nitrobenzyl derivatives of alurate and phanodorn.[4, 5]

Methods of Preparation and Analysis.

The derivatives of the three substituted barbituric acids were prepared in the following manner: The acid and sodium or potassium carbonate were weighed out in the proportion of one gram molecule of acid and one gram molecule of the carbonate, and the two substances were dissolved in a little more than enough boiling water to make a saturated solution. The benzyl halides were weighed out in the ratio of two gram molecules of these compounds for each gram molecule of acid and dissolved in an amount of alcohol twice as large as the amount of water used to dissolve the acid and the carbonate. These two solutions were then mixed, and the resulting mixture was refluxed for from one-half to one hour

Table I. Analytical data.

Compound	Formulae	Melting Point Block	Nitrogen		Halogen		Crystal Habit
			Calcd. %	Found %	Calcd. %	Found %	
Alurate	$C_{10}H_{14}N_2O_3$	138	13,45	13,51 13,56			Rods and plates
Benzyl derivative	$C_{24}H_{26}N_2O_3$	115	7,18	7,14 7,26			Plates and clusters
o-Bromobenzyl derivative .	$C_{24}H_{24}N_2O_3Br_2$	85			29,17	29,24 29,29	Plates
m-Bromobenzyl derivative	$C_{24}H_{24}N_2O_3Br_2$	104			29,17	29,20 29,32	Rods
p-Bromobenzyl derivative .	$C_{24}H_{24}N_2O_3Br_2$	129			29,17	29,07 29,26	Plates and rods
o-Chlorobenzyl derivative .	$C_{24}H_{24}N_2O_3Cl_2$	74			15,43	15,58 15,60	Yellow plates and rods
m-Chlorobenzyl derivative.	$C_{24}H_{24}N_2O_3Cl_2$	66			15,43	15,56 15,62	Plates and rods
p-Chlorobenzyl derivative .	$C_{24}H_{24}N_2O_3Cl_2$	131			15,43	15,55 15,54	Yellow plates and rods
p-Nitrobenzyl derivative ..	$C_{24}H_{24}N_4O_7$	191	11,66	11,52 11,60			Plates and rods
Phanodorn	$C_{12}H_{16}N_2O_3$	173	11,86	11,81 11,75			Plates
o-Bromobenzyl derivative .	$C_{26}H_{26}N_2O_3Br_2$	149			27,83	27,72 27,78	Plates and rods
m-Bromobenzyl derivative	$C_{26}H_{26}N_2O_3Br_2$	118			27,83	27,69 27,75	Yellow needles and rods
p-Bromobenzyl derivative .	$C_{26}H_{26}N_2O_3Br_2$	132			27,83	27,79 27,81	Plates

o-Chlorobenzyl derivative .	$C_{26}H_{28}N_2O_3Cl_2$	120			14,60	14,73	Yellow plates and clusters
						14,64	
m-Chlorobenzyl derivative.	$C_{26}H_{26}N_2O_3Cl_2$	102			14,60	14,48	Plates and rods
						14,56	
p-Chlorobenzyl derivative .	$C_{26}H_{26}N_2O_3Cl_2$	125			14,60	14,57	Yellow plates and rods
						14,63	
p-Nitrobenzyl derivative . .	$C_{26}H_{26}N_4O_7$	194	11,07	10,96			Pale yellow plates
				11,02			
Evipal	$C_{12}H_{16}N_2O_3$	144	11,86	11,82			Rods
				11,76			
p-Nitro derivative	$C_{19}H_{21}O_5N_3$	115	11,31	11,46			Rods and plates
				11,28			

with the exception of certain derivatives. The ortho-chlorobenzyl and the ortho-bromobenzyl derivatives required from two to three hours. During the process of refluxing, the crystals of the derivatives usually separated out. This condition was true for most of the derivatives with the exception of the orthohalogen substituted benzyl derivatives; these derivatives separated as oily liquids which usually crystallized on standing in a cooler. All of the derivatives of evipal separated in the form of oils and, in every instance except the para-nitrobenzyl derivative, remained in that condition. This condition was also true for the ortho- and metanitrobenzyl derivatives of each of the three barbituric acids studied. These derivatives separated and remained as oils. After the derivatives had formed, they were separated from the solution by filtration and dissolved in a mixture of alcohol and chloroform and then were recrystallized. This procedure was repeated until there was no change in the melting point of the compound. To reach this state of purity usually required from two to four recrystallizations. The derivatives were then dried in the air. The free barbituric acids were recrystallized from 50 per cent alcohol before their properties were determined.

Two methods were used in determining the melting points. In the first method, the melting points were taken in a tube inserted in a mechanically-stirred oil bath. In the second method, the melting points were taken on a *Maquenne* block.

The halogen content was determined by the sodium-absolute alcohol method recommended by *Kamm*[6]. The nitro-benzyl and benzylderivatives were analyzed by determining nitrogen by the *Gunning*[7]

method, modified to include the nitrogen of the nitro group by the use of zinc as the reducing agent in some determinations and by the use of dextrose[8] in others. Concentrated hydrogen peroxide solution was used to hasten the decomposition of some of the compounds according to the method described by *Poe* and *Dewey*.[9] Selenium[10] was added to hasten the digestion in several of the determinations.

Methods and Procedures.

The optical properties were determined by means of a petrographic microscope. The refractive indices were determined by immersing the crystals in liquids of known refringence and comparing the refractive index of any given grain with that of the enveloping liquid by means of the Becke test. The temperature at which the indices were taken was $25° \text{ C} \pm 1°$. The orientations of the crystals so studied were determined by means of the interference figures. Whenever possible, crystals were used in those orientations which gave centered interference figures. The principal refractive indices for these orientations are as follows:

Interference figure	Optical sign	Indices observable
Acute bisetrix	+	α and β
Acute bisetrix	—	β and γ
Obtuse bisetrix	+	β and γ
Obtuse bisetrix	—	α and β
Optic normal	+ or —	α and γ
Optic axis	+ or —	β

In many instances, especially those in which the optic angle was very large, it was difficult to tell whether or not an interference figure was an acute bisectrix, obtuse bisectrix, or optic normal figure. These crystals would give two principal indices at extinction positions 90 degrees apart. The third index was found by crushing the crystals on the microscope slide, in order to obtain more random orientations. In a few instances in which no orientation for an optic axis figure could be found, the beta index was found on crystals showing an interference figure in which the isogyre passed through the center of the field at the extinction position. In other instances, the crystals consisted of such exceedingly thin plates that no orientation for the third index could be achieved.

Experimental Results.

The analytical results obtained for the barbituric acid derivatives are presented in Table I. Table II lists the optical-crystallographic data for these compounds.

The optical properties of the derivatives of the three barbituric acids differ sufficiently from each other to allow the use of the optical data in the identification of the original barbituric acid. No previous optical-crystallographic data have been reported for the derivatives of these barbiturates.

Table II. Optical Crystallographic Data.

Compound	System	Optical Sign	Axial Dispersion	Refractive Indices		
Alurate	Monoclinic	—	none	1,489	1,566	1,603
Benzyl derivative	Monoclinic	+	none	1,577	1,592	1,660
o-Bromobenzyl derivative	Monoclinic	—	none	1,591	1,631	1,655
m-Bromobenzyl derivative	Monoclinic	—	$v > r$	1,542	1,655	1,669
p-Bromobenzyl derivative	Monoclinic	+	$r > v$	1,561	1,581	1,674
o-Chlorobenzyl derivative	Monoclinic	—	$r > v$	1,549	1,649	1,705
m-Chlorobenzyl derivative	Monoclinic	+	none	1,537	1,587	1,655
p-Chlorobenzyl derivative	Monoclinic	+	$v > r$	1,532	1,560	1,682
p-Nitrobenzyl derivative	Monoclinic	+	slight	1,583	1,602	1,681
Phanodorn*	Monoclinic	+	$v > r$	1,518	1,553	1,623
o-Bromobenzyl derivative	Monoclinic	+	$r > v$	1,588	1,608	1,651
m-Bromobenzyl derivative	Monoclinic	—	slight	1,596	1,654	1,675
p-Bromobenzyl derivative	Monoclinic	+	slight	1,572	1,618	1,681
o-Chlorobenzyl derivative	Monoclinic	—	slight	1,564	1,623	1,651
m-Chlorobenzyl derivative	Monoclinic	+	$r > v$	1,585	?	1,654
p-Chlorobenzyl derivative	Monoclinic	+	$v > r$	1,566	1,600	1,679
p-Nitrobenzyl derivative	Monoclinic	—	$r > v$	1,632	1,684	$>CH_2I_2$
Evipal*	Monoclinic	—	$r > v$	1,549	1,609	1,638
p-Nitrobenzyl derivative	Monoclinic	—	$v > r$	1,551	1,621	1,650

Acknowledgment.

The authors wish to thank Hoffman-La Roche, Inc., for the alurate, Winthrop Chemical Company, Inc., for the evipal, and Merck and Company for the phanodorn.

Zusammenfassung.

Zur Kennzeichnung von Evipan (1-5-Dimethyl-5-Δ_1-cyclohexenylbarbitursäure), Numal (5-Allyl-5-Isopropylbarbitursäure) und Phanodorm (5-Cyclohexenyl-5-aethylbarbitursäure) wurden Benzylderivate hergestellt und analysiert. Die kristalloptischen Kennzeichen wurden für sechzehn dieser neuen Derivate bestimmt. Die meisten Derivate des Evipans wurden als Öle erhalten und verblieben — mit Ausnahme des *p*-Nitrobenzylderivates — in diesem Zustande. Die optischen Eigenschaften der Derivate der drei genannten Barbitursäureabkömmlinge unterscheiden sich genügend voneinander, um die Identifizierung der Säuren mit Hilfe der kristalloptischen Daten zu gestatten.

* *R. N. Castle* recently reported optical-crystallographic data for phanodorn and evipal. J. Amer. Pharmoc. **38**, 47 (1949).

Literature Cited.

[1] *M. E. Hultquist* and *C. F. Poe*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **7**, 398 (1935).

[2] *M. E. Hultquist, C. F. Poe* and *N. F. Witt*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **14**, 219 (1942).

[3] *M. E. Hultquist, C. F. Poe* and *N. F. Witt*, J. Amer. Chem. Soc. **67**, 688 (1945).

[4] *C. W. Hargreaves* and *H. W. Nixon*, J. Amer. Pharmac. Assoc. **22**, 1250 (1933).

[5] *J. C. Jespersen* and *K. Thoudahl-Larsen*, Dansk. Tids. Farm. **8**, 212 (1934).

[6] *Oliver Kamm*, Qualitative Organic Analysis, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1938.

[7] Official and Tentative Methods of Analysis, Assn. Official Agric. Chem., 5th ed., Washington, D. C. 1940.

[8] *A. Elek* and *H. Sabotka*, J. Amer. Chem. Soc. **48**, 501 (1926).

[9] *C. F. Poe* and *B. T. Dewey*, J. Amer. Pharmac. Assoc. **25**, 419 (1936).

[10] *C. F. Poe* and *Margaret Nalder*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **7**, 189 (1935).

Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y.

Suggestions to the Calibration of Weights.

By

A. A. Benedetti-Pichler.

With 2 Figures.

(Received January 15, 1949.)

It is usually said that calibrated weights are needed for the testing of volumetric apparatus such as flasks, burets, and pipets. Since the precision of the calibration of this apparatus need not be better than 1 part in 10000, i. e., $\pm$ 0,1 ml for a 1-liter flask and $\pm$ 0,001 ml for a 10-ml pipet, one may conclude that the calibration of weights for this purpose also need not exceed an accuracy of a few tenths of a milligram. Instead of saying that the weights must be calibrated, it would be more fitting to state that one should check their adjustment.

Precisely calibrated weights are, however, needed for (a) the calibration of volumetric apparatus for microchemical work; (b) gravimetric work of high relative precision; and (c) determination of equivalent weights for the computation of atomic weights. In all these instances, a high absolute precision of weight corrections is required, and all precautions must be taken to assure attainment of this goal. The three principal phases of the task: choosing the weights, weighing, and evaluation of data, shall be critically discussed with the emphasis costantly upon the resulting precision.

The Weights.

The weights should be of good quality so that it will not be necessary to repeat the calibration after a short time. Their surface should be highly polished, and no discoloration should be noticeable along the line of junction of handle and body in the instance of screw-knob weights (class *S* of the United States Bureau of Standards).[1] If a precision of better than $\pm$ 0,01 mg. is to be attained in calibration and use of the

set, all weights should be made of one piece (class M) and the fractional grams should be made of the same material as the grams.

Weighings of high precision require careful consideration of the uplift in air. Because of the air-filled cavity of screw-knob weights, their exact volume can be ascertained only by immersion and determination of the volume of displaced liquid. This procedure is, in turn, objectionable, since some of the liquid might enter the cavity. Obviously, such weights are objectionable for work of highest precision, since there is no way of reliably correcting for the buoyant effect or its changes as a consequence of variations in the atmospheric conditions.

Fractional weights consisting of a different material than the whole grams are customarily adjusted so as to represent the correct weight fractions in air of the density 1,20 gram per liter. Obviously, discrepancies will appear when the density of air changes.[2] Assuming that the whole grams consist of brass and the fractions of aluminium, a variation of 0,1 g. per liter in the density of the atmosphere, which may at times occur, would require an adjustment of 14 micrograms for the weight of the 0,5-g. piece.

Special attention should be given to the arrangement of multiples in the decades of the set of weights. Above all, one should insist that the set must not contain two pieces of the same denomination. In spite of punch marks, such pieces invite confusion of identity and usually cause trouble even in calibration. Worse, they will be the cause of errors when using the calibrated set. In the absence of identical twins the corrections to absolute weight may be applied with complete assurance even months after the weighing has been performed, if one just rigidly adheres to the rule of always using the largest weights first.

Of the two possible arrangements of multiples, 1-2-3-5 and 1-2-3-4, the first is to be preferred. Both types permit building up a given weight by means of a minimum of individual pieces; this assures a maximum precision as demonstrated in the preceding paper of this series.[3] The combination 1-2-3-5, however, requires the handling of a smaller number of weights in the process of calibrating, and the corrections to absolute weight acquire a slightly higher precision than those obtainable for a set with the multiples 1-2-3-4. For proof, one may see the next and last paper of this series.[4]

The Procedure of Weighing.

Gauss' method of transposition is recommended in preference to all other procedures. Above all, it gives a doubly better precision than either direct weighing or weighing by substitution.[3] Confusion as to right and left is easily avoided by proceeding as if the object were always on the left-hand pan. The proper reversal of the sign of deflection and rider

displacement may be readily accomplished by a systematic procedure of computation. No auxiliary set of weights is required as in the method of substitution, and the shifting of the weights from one pan to the other is easily and quickly performed, for there will be never more than five weights on both pans when using a set with the multiples 1-2-3-5. The author, probably like most other chemists, has successfully dodged the use of *Gauss'* method for nearly a lifetime, but he is now ready to confess to a complete reversal of opinion after a fair trial of brief duration.

It is true that the correction for the arm ratio is usually insignificant as far as the fractional grams are concerned,[5] when weighing with a good analytical balance and finally perhaps even rejecting the hundredths of the milligram in listing the corrections. Still, use of direct determination of weight would not be justified when striving for a high precision. Especially when working with a microchemical balance, the loss of precision would not be compensated by the rather questionable gain in time, which may be altogether imaginary in this instance, because of the necessity for repeatedly checking the zero deflection of the balance.

MacNevin[2] has suggested using direct determination of weight for the comparison of the weights of a set with the corresponding pieces of a calibrated set. It is thereby assumed that the effect of the arm ratio is eliminated, if the pieces of the set are used in weighing, as in calibration, always on the right-hand pan of the same balance. It is obvious that this will hold true only under the condition that the arm ratio of the balance remain constant for all loads, which, judging by the experiments of *Lindner*,[6] seems a rather questionable assumption especially for microchemical balances. If the arm ratio varies with the load, an error will be introduced by applying the calibration value of a 500-mg. piece, which was obtained with a load of 500 mg. on the pans, to weighings with larger masses on the pans. In this connection, it may also be pointed out that our knowledge of the arm ratio for small loads is quite uncertain. Table I of the paper by *Herbo*[5] clearly demonstrates how the precision of the determination of the arm ratio decreases with the load. It does seem a poor bargain accepting a measure of insecurity and loss of precision in exchange for an imaginary gain in convenience.

Methods of Calibration.

Comparison of the weights of a set, piece by piece, with the corresponding denominations of a reliable master set is the most obvious procedure of calibration. Its simplicity is inviting, but it has many faults. The fact that an error committed in the calibration of one piece will not affect the calibrations of the other weights of the set, is actually a definite

disadvantage. In all probability, the error will not be discovered. Of course, the calibration should be repeated in order to be able to check the results. This means that exactly the same weighings will be performed a second time, and if they are performed by the same person, there is a good chance that the same errors will be committed twice. Consequently, it is preferred to compare the weights singly and in groups,[7] whereupon the most probable values may be calculated by the method of least squares so as to improve the precision of the calibration. The charming simplicity of the method is then, of course, sacrificed to the necessity of safeguarding the correctness of the results.

Furthermore, it must be realized that even under the best conditions the data furnished by the calibration cannot be better or more reliable than the data given for the master set. Since the customary certificate of the United States Bureau of Standards does not list more than five decimals of the gram for the "true weights", it is obvious that uncertainties of the order of several micrograms, and several hundredths of a milligram in the instance of larger pieces, are thus introduced. This does not yet take into consideration that the pieces of the master set may have undergone changes of mass. Only a very expensive set of weights could be relied upon after an extended period of suitable storage. Screw-knob weights would have to be checked by the Bureau at frequent intervals, for they are quite unpredictable; some pieces may gain while others lose weight, and still others may remain constant. It follows that piece-for-piece comparison with such a set may give calibration values which are not even internally consistent in this sense that they would not correctly represent the true proportions of the masses of the calibrated set. In summarizing the objections against piece-for-piece comparison, one may emphasize that the precision is limited by the precision of the data for the master set, while, at the same time, no better reason can be given for the use of these data than the *faith* in the assumption that the master set has not undergone any change since the last check-up.

For the attainment of high precision, only the methods of *Kohlrausch* and of *Richards* may be considered. Both are based on essentially the same principle. *Kohlrausch*'s method starts with the assumption that the total weight of all the large pieces of the set is exactly equal to the sum of their nominal values. Pieces of the set and combinations of pieces of the set are then compared with the use of the balance. Finally, the weights of the individual pieces are calculated as correct fractions of the total weight of all large pieces. The more or less "mathematical" manner, in which the problem is approached, is not especially inviting to most chemists, who will rather prefer to follow the simple and straightforward reasoning of *Richards*.

Richards' Method.

Richards required the knowledge of the exact proportions of the masses of his sets for their use in the determination of atomic weights. In his case, there was no need of expressing the masses in terms of the international kilogram, but use of a certified weight for the permanent standard allows this to be accomplished without difficulty. His procedure[8] is slightly modified in the following description.

A duplicate of the smallest weight of the set is taken for temporary standard. Its weight is assumed to be exactly that indicated by its nominal value (10,000 mg.). The smallest weight of the set (0,01 g.) is weighed by means of the temporary standard, and its weight is calculated relative to that assumed for the temporary standard. Now, the relative weights of two pieces are known, and one is able to determine the relative weight of the next larger piece (0,02 g.) by comparing it on the balance with the temporary standard plus the smallest weight. This is continued until the relative weights of all pieces of the set and of the permanent standard have been obtained. For permanent standard, one selects a weight which has either the same nominal value as the largest piece of the set, or (and this is preferable) which is twice as heavy as the largest piece of the set. If the permanent standard has been calibrated by a Bureau of Standards, the masses of the set may be readily calculated in terms of the international kilogram. However, any good weight from a reliable manufacturer will usually do. *Richards* took the largest weight of the set for the permanent standard.

If the weighings are correctly carried out, it follows by necessity that the determined relative weights r_i (and R for the permanent standard) must be exactly in the same relations as the true weights of the pieces in air. When a_i and A stand for the absolute (or true) weights in air of the pieces of the set and the permanent standard, respectively, the relation must hold,

$$a_i/A = r_i/R$$

and the absolute weight of any piece of the denomination i must be equal to

$$a_i = r_i\,(A/R) \ldots \qquad (1)$$

Use of this equation for the computation of the absolute weights must naturally cause considerable hardship, since multiplications and divisions require working with from four to nine figures depending upon the nominal value of the weight and the needed precision. To escape this drudgery, *Richards* devised a method of computation, which is in substance identical with the use of the following equation for the correction to absolute weight:

$$c_i = a_i - n_i = \frac{A}{R}\left(r_i - \underbrace{\frac{n_i}{N}\,R}_{\substack{\text{relative}\\ \text{aliquot}}}\right) + \underbrace{n_i\left(\frac{A}{N} - 1\right)}_{\substack{\text{absolute}\\ \text{aliquot}}}. \qquad (2)$$

$$\underbrace{\text{relative difference}}_{\text{absolute difference}}$$

The symbols n_i and N stand for the nominal values of the pieces of the set and the permanent standard, respectively.

Richards believed that the use of his method of computation implied a negligible approximation, but it was shown by *Blade*[9] that *Richards'* intuition had led to an exact solution of the problem. This may be easily verified by carrying out the multiplications indicated in equation (2), which then is reduced to the obviously exact statement of equation (1).

Calculation based on equation (2) hardly ever requires the use of more than four significant figures in multiplication and division, and the computation is easily performed by means of a tabular method. The precision of the obtained corrections to absolute weight in air has been carefully investigated. In the paper which is to follow this article, it will be demonstrated that the absolute uncertainty of the corrections is approximately identical for all pieces of the set and significantly smaller than the uncertainty of a determination of weight. There is no accumulation of uncertainty, as is at times believed; quite to the contrary, the precision of the calibration is better than that of the method for the determination of weight employed.

Whether or not a certified weight is used as permanent standard, the corrections will lead to weight in terms of the international kilogram for the smaller pieces of the set, and above all, the corrected weights will be truly representative of the actual proportions between the weights of the set.

Recommended Procedure.

Richards' method for the calibration of a set of weights is neither tedious nor difficult. The work may be frequently interrupted without any damage to the precision of the results, and consequently, it may be performed during odd periods of spare time.

There is, however, one note of warning, which cannot be sounded too insistently. The work must be carried out in a systematic fashion so as to avoid confusion. Minor mistakes in computation, as skipping a figure or changing a plus to a minus sign, are easily committed and, what is worse, are easily committed repeatedly in the same place, so that it seems absolutely necessary to have the whole computation independently done again by a second person. In spite of the fact that the author has not yet caught a mistake in his original weighings, it seems advisable

to have the whole calibration independently repeated by a second person who should use a temporary standard of slightly different weight so as to make certain that he will get an entirely different set of figures. It seems only common sense to insist on the use of the most elementary precautions in the performance of such a basic operation as the calibration of a set of weights, which will be employed in work of highest precision.

The first step in the actual performance of a calibration will be the selection of the balance. The choice will be mainly dictated by the precision requirements and considerations of efficiency. If necessary, the pans and the interior of the balance case should be cleaned. For the removal of dust, a small vacuum cleaner is easily improvised by mounting a camel's hair brush in the orifice of a short piece of rubber tubing as indicated by Figure 1.

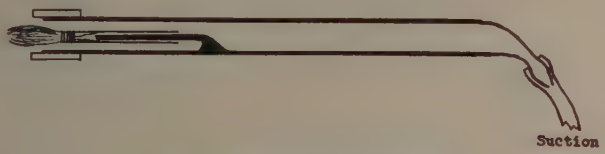


Fig. 1. Vacuum Cleaner for Balances.

Weights of good quality are selected for temporary and for permanent standards. Of course, it is best to use certified weights made of one piece of corrosion resistant and non-magnetic alloy or metal.[10] The temporary standard has to have the same denomination as the smallest weight to be calibrated, which is usually the same as the largest weight which may be added by means of the rider. The permanent standard should be taken twice as heavy as the largest weight to be calibrated, if the carrying capacity of the balance permits.

Suggestions concerning the specifications of the set to be calibrated have been made in a preceding section. It must be added that also the rider should be of the same material as the weights, or have at least closely the same density, if a precision of better than $\pm$ 0,0005 mg. is required. The weights should be cleaned by wiping between double or triple layers of lint-free linen or lens paper and then assembled on a clean glass plate inside the balance case. The glass plate is best placed on a sheet of paper, which lists in the proper places the nominal values of the weights, Fig. 2. A cover of some transparent material should be applied whenever the work has to be interrupted.

The next step is the testing and, if necessary, adjustment of the rider. For this purpose, it is preferable to have a certified or otherwise calibrated weight for tentative standard. It is then possible to adjust the weight of the rider so closely at this time that its correction to absolute

weight will become insignificant. If no calibrated weight is available, it will be best to use a piece of wire for the tentative standard and to adjust its weight sufficiently to that of the rider so that small displacements of the rider during calibration of the weights need not be corrected for the calculation of the relative weights. The fine adjustment is performed by touching weight or rider with a file or emery paper, which must be always followed by wiping and dusting before the weights are returned to the balance. Of course, the rider is always used on the rider scale, since only its effective weight in position on the scale is of interest, and

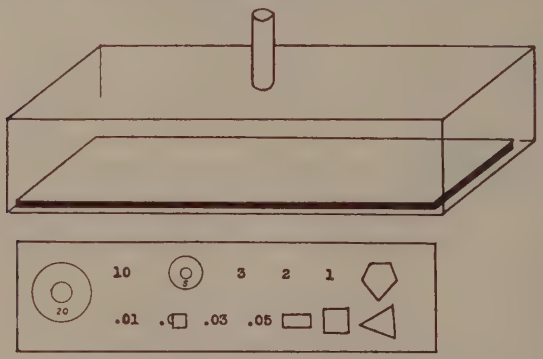


Fig. 2. Assembling Weights in Balance Case.

it is always tacitly assumed that the use of the rider on this scale does not adversely affect the precision of the weighing.[3]

Before starting with the calibration proper, it will be advisable to make certain that all requirements have been met, which have to be satisfied in order to obtain the desired precision in weighing. Especially if a microchemical balance is being used, it may be advisable to test for the absence of electrostatic charges in the balance case, which may be done with the use of a silk fiber attached to a glass rod. The temperature should be indicated by a thermometer inside the balance case, and the barometer should be read, if corrections for the buoyant effect are required.

The calibration is best started with the rider. Since the effective weight of the rider on the rider scale is required, the use of transposition is impossible. Either direct determination of weight with the temporary standard on the left-hand pan, or substitution may be used. In either case, all observations of deflection must be performed four times so as to obtain the precision of weighing by transposition. Since there is no advantage to be gained by direct weighing, substitution should be used by all means.

Table I. Calibration of Weights.

Set No. 24. Balance No. 2. Constant temperature 30 C. June 18 – 27, 1946.

On left pan	On right pan	Rider with object		Deflection with object		Notes
		left	right	left	right	
1	2	3	4	5	6	7
aux. 0,01	t. st.	0,0		—65		
same	empty	10,0			+67	4 weighings by
same	t. st.	0,0		—67		substitut.
same	empty	10,0			+69	
	t. st.			—64		
	empty					
				—65,2	+68	means
"alpha"	empty	5,0		+13		
0,01	t. st.	4,9		+49		
t. st.	0,01		5,1		—52,7	—51
			5,0	mean	from:	+48
			5,1			—53
			5,0			+49
			5,1			—54
			5,0			+50
0,02	t. st. + 0,01	5,0		+10		
t. st. + 0,01	0,02		5,0		—12	
0,03	t. st. + 0,02	5,0		+21		
t. st. + 0,02	0,03		5,0		—18	
0,05	0,03 + 0,02	5,0		zero		June 21 reduced barometer reading 756 mm.
0,03 + 0,02	0,05		5,0		—3	
0,1	0,05 + 3 + 2	5,1				
0,05 + 3 + 2	0,1					
						barometer reading 758 mm.
10	5 + 3 + 2	5,0		+27		
5 + 3 + 2	10		5,0		—11	
20	10+5+3+2	5,0		+8		
10+5+3+2	20		5,0		+2	
P. St.	20	5,0		—1		
20	P. St.		5,0		+17	

The procedure is indicated, step for step, by Table I which is also intended to serve as a model for the keeping of the record. It is assumed that the set of weights belonging to a microchemical balance is being calibrated. To begin with, a 10-mg. auxiliary weight is placed on the left pan. The temporary standard is placed on the right pan, and the deflection is observed as in a direct weighing with the object on the left pan. Then the temporary standard is removed; the rider is shifted to the position 10, and again the deflection is observed. These two weighings are repeated in this order three more times. Finally, the arithmetical means of both series of four observations of deflection are calculated.

If the zero position of the rider is on the end of the beam, it is advisable to have during the remainder of the calibration a small weight continuously on the left pan so as to keep the rider near the center of the rider scale. This "alpha" weight of *Richards* should be so adjusted that a small deflection is obtained with the rider in proper position.

The main portion of the weighings is performed according to a uniform scheme. The horizontal lines in Table I indicate where the work may be interrupted without damage to the precision. If the sensitivity of the balance is not yet known with sufficient precision, it may be determined simultaneously with the calibration of the weights as indicated in Table I in connection with the calibration of the 0,01-mg. weight. Of course, the determination of the sensitivity will have to be repeated at least for the loads 5, 10, and 20 g. In each instance, the arithmetical means of two series of three observations each of the deflection should be used for the calculation of the sensitivity.[3] Plotting the reciprocal sensitivities against load on graph paper will show whether or not it is advisable to determine the sensitivity for some additional loads.

In starting the work, the 0,01-g. weight is placed on the left pan, the temporary standard on the right pan. The position of the rider is adjusted, if necessary, and the deflection is observed. Then the two weights are interchanged. The rider is again adjusted, if necessary, and the deflection is again observed as if the object were still on the left pan. The determination of the sensitivity is performed by observing the deflection with the rider shifting back and forth from one position to the other.[11] It is, of course, assumed that the "alpha" deflection will not change while these weighings are performed, and it is expected that the work is being performed in such a manner as to justify this assumption.

For the calibration of the 0,02-g weight, it is only necessary to return the temporary standard to the right-hand pan and to transfer the new weight to the left-hand pan. If necessary, the rider is moved so as to keep the deflection below six tenths of the observed sensitivity.[3] After observing the deflection, the masses are interchanged, and the deflection

Table II. Computation of Relative Weights.

Set 24, June 18—27, 1946.

Object	From Table I differences of columns 3—4	From Table I differences of columns 5—6	$0{,}5\,s^{-1}$	From this Table: One half of column 2	From this Table: Product columns 3 4	List of weights used and their relative weights in mg	Sum of rel. wts. from 7 plus sum corrections 5 + 6	Relative weight of object in mg	Object
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rider		—133,2	0,00050		0,1332	t. st. = 10,000	10,000 —0,1332	9,8668	*Rider*
t. st.								10,0000	t. st.
0,01	−0,200	+101,7	same	—0,100	+0,0509	t. st. = 10,000	10,000 —0,0491	9,9509	0,01
0,02	zero	+ 22	same	zero	+0,0110	t. st. = 10,000 0,01 = 9,9509	19,9509 +0,0110	19,9619	0,02
0,03	zero	+ 39	same	zero	+0,0195	t. st. = 10,000 0,02 = 19,9619	29,9619 +0,0195	29,9814	0,03
0,05	zero	+ 3	same	zero	+0,0015	0,03 = 29,9814 0,02 = 19,9619	49,9433 +0,0015	49,9448	0,05
0,1	+0,100	— 31							
20	zero	+ 6	0,00055	zero	+0,0033	10 = 9738,079 5 = 4869,984 3 = 2922,446 2 = 1945,6126	19476,1216 +0,0033	19476,125	20
p. st.	zero	— 18	same	zero	—0,0099	20 = 19476,125	19476,125 —0,0099	19476,115	p. st.

is again observed. After returning the temporary standard to the right-hand pan and removing the 0,01-g. weight, the left pan is ready to receive the 0,03-g. piece. In this manner, all weights of the set and the permanent standard are compared. The expenditure of time may be easily estimated from the time required for a weighing. Eight weighings are needed for the determination of the relative weights of a decade of the set.

The repetition of the determination of the relative weights should be started immediately. It will take less time, since the adjusting of the rider and the determination of the sensitivity need not be repeated. Even the calibration of the rider may be eliminated. If another, slightly different weight is used for temporary standard, there is no objection against performance of all weighings by the same operator. It is essential, however, to have the computation of the relative weights and of the corrections to absolute weight independently done by a second person.

Table II is a model for the procedure to be followed in the calculation of the relative weights. Into columns 2 and 3 are entered the algebraic differences calculated from the data of Table I: "rider position with object on left pan minus rider position with object on right pan" and "deflection with object on left pan minus deflection with object on right pan". The column headings apply strictly only to weighings by transposition, and the procedure automatically corrects for the fact that all rider positions and deflections have been recorded as if *the object always had been on the left-hand pan of the balance*. Nevertheless, extreme care should be exercised to make certain that all figures are carried forward with their proper signs from column to column.

The reciprocals of the sensitivity are divided by two and entered into column 4. The first line of columns 5 and 6 needs special treatment because of the use of substitution in weighing the rider. The item of column 2 is transferred to column 5 without division by two. The product of items in columns 3 and 4 is multiplied by two previous to entering it in column 6. The rest of the table hardly needs explanation. It is understood that the relative weights needed in column 7 will be found in column 9, if by starting with the top of the table each horizontal row is completely filled out before proceeding to next lower one.

The calculation of the corrections to absolute weight is finally carried out as shown by Table III which is based on the use of equation (2). Starting with the permanent standard, the relative weights are entered into column 2. The absolute weight A (heading of Table III) of the permanent standard is either known from previous calibration, or it is set equal to the nominal value N. In the latter instance, $(A/N) - 1$ as well as all items of column 6 become zero.

The relative aliquots of column 3 are obtained by simple division by whole numbers. Those of the 10-g. and 5-g. pieces are obtained by simple

division by two. That of the 1-g. piece is exactly one tenth of that of the 10-g. piece. The relative weight of the 3-g. piece is obtained by multiplication by three, and for all of the smaller weights a simple shifting of the decimal point will suffice.

Table III. Calculation of Corrections to Absolute Weight.
A = 20 000,03 mg. $A'R$ = 1,0269. $(A/N) - 1 = + 0{,}001\,5$ mg per gram.
Set No. 24. Balance No. 2. 757 ± 1 mm, 30 C. June 18—27, 1946.

Nominal value: n_i gram	Relative wt. r_i from Table II mg	Relative aliquot: $(n_i/N)R$ mg	Relative difference: col. 2 minus col. 3 mg	Absolute difference: column 4 $\cdot (A/R)$ mg	Absolute aliquot: $n_i\,(A/N-1)$ mg	Correction to abs. wt. c_i gm
1	2	3	4	5	6	7
p. st.	19476,115	19476,115	zero	zero	+0,03	+0,03
20	19476,125	19476,115	+0,010	+0,0103	+0,03	+0,04
10	9738,079	9738,0575	+0,0215	+0,0221	+0,015	+0,04
5	4869,984	4869,0288	+0,9552	+0,9810	+0,0075	+0,989
3	2922,446	2921,4173	+1,0287	+1,0564	+0,0045	+1,061
2	1945,6126	1947,6115	—1,9989			
1	973,1352					
0,05	49,9448	48,6903	+1,2545			
0,03	29,9814	29,2142	+0,7672	+0,7879	zero	+0,788
0,02	19,9619	19,4761	+0,4858	+0,4989	zero	+0,499
0,01	9,9509	9,7381	+0,2128	+0,2185	zero	+0,219
Rider	9,8668	9,7381	+0,1287	+0,1322	zero	+0,132
t. st.	10,0000	9,7381	+0,2619	+0,2690	zero	+0,269

The relative differences are found by subtracting the items of column 3 from those of column 2. Close attention must be paid to the resulting signs of the differences. The absolute differences are

obtained by multiplying the items of column 4 by A/R. If the set of weights is well adjusted, the relative differences may contain only one or two figures, which makes for very simple calculations. The multiplication may become even unnecessary, if A/R sufficiently approaches unity.

The absolute aliquots of column 6 are usually insignificant in the smaller decades of the set. The corrections to absolute weight are finally obtained by algebraic addition of the items in columns 5 and 6.

The corrections obtained in two independent calibrations of the set of weights should agree within at least *2,8 times the standard deviation calculated for the corrections*,[4] i. e., within twice the standard deviation of the difference, which is 1,4 times the standard deviation of a correction. Any larger discrepancies must be removed by repetition of the computations and, if necessary, by a repetition of the weighings involved. If a weighing error is discovered, the computation must be repeated for all weights which are significantly affected and which may be located by inspection of Tables I and II of the next paper of this series.[4] It must not be overlooked that a change of the value for R may affect all corrections.

It is obvious that the arithmetical means of the corrections found are to be entered into the final list of corrections so as to obtain a further improvement of the precision.

The corrections appearing in column 7 of Table III indicate a very poorly adjusted set. The corrections would be inconveniently large, and it would be especially bothersome to have to correct all rider readings in microchemical work or other work requiring high precision. Actually, it would be necessary to repeat the computation of the corrections after appropriate correction of the figures listed in column 2 of Table II. This done, however, it would be possible to perform highly precise weighings with the use of this poorly adjusted set of weights. Obviously, much inconvenience could have been avoided by using a carefully adjusted weight for temporary standard and also adjusting the rider so as to make its effective weight on the beam exactly equal to $10{,}000 \pm 0{,}001$ mg.

It should be recalled at this time that, so far, only weight in air has been determined, and that even the corrections may not remain consistent within the set itself, if the specific volumes are not the same for all weights. Corrections to give "true" mass may be easily obtained, however, by proper consideration of the buoyant effect.

Summary.

Carefully calibrated weights are needed only for such chemical investigations which require weighings of high precision. Consequently,

the attainment of high precision should be considered first when selecting the weights and when deciding on the method of weighing and on the procedure of calibration to be used.

The superior precision of *Gauss*' method of weighing by transposition has been discussed in a preceding paper, and it will be demonstrated in a paper, which is to follow, that *Richards*' procedure for the calibration of a set of weights permits attainment of a precision superior to that of the method of weighing used in the process of calibration. Furthermore, it is argued that sets with the multiples 1-2-3-5 in the decades not only save work in calibration, but also assure highest precision in calibration and in use.

An efficient procedure of calibration combined with a tabular method for the computation of the results are outlined in detail. Suggestions are made for the safeguarding of the results against paltry mistakes, and the necessity for rigorous checking of the results by independent repetition of the calibration is emphasized.

Zusammenfassung.

Der Chemiker benötigt sorgfältig geeichte Gewichte zur Hauptsache nur zur Ausführung solcher Arbeiten, die Wägungen von hoher Präzision erfordern. Dementsprechend muß die Erreichung höchster Präzision bei Auswahl der zu kalibrierenden Gewichte und bei Entscheidung über die zu wählende Wägemethode und das zu benutzende Eichungsverfahren ständig im Auge behalten werden.

Die hervorragende Präzision der *Gauß*schen Wägungsmethode wurde in einer vorhergehenden Arbeit besprochen und in einer späteren Mitteilung soll der Beweis erbracht werden, daß *Richards*' Eichungsverfahren, das wesentlich mit dem *Kohlrausch*schen identisch, doch leichter verständlich ist, eine Präzision der Eichwerte gibt, die jene des verwendeten Wägeverfahrens übertrifft. Außerdem wird darauf hingewiesen, daß Gewichtssätze mit der Unterteilung 1-2-3-5 in den Dekaden nicht nur bei der Eichung Arbeit ersparen, sondern auch Erreichung höchster Präzision bei der Eichung wie auch im Gebrauch sichern.

Richards' Eichverfahren wird kurz besprochen und seine zielbewußte Anwendung und Berechnung der Eichwerte in Tabellenform wird an Hand eines Beispieles genau erläutert. Besonderes Augenmerk wird auf die Verhinderung des Einschleichens kleiner Irrtümer bei der Auswertung der Wägungen gelegt, und es wird betont, daß die Richtigkeit der gefundenen Werte durch Wiederholung der Eichung, am besten durch eine zweite Person, sichergestellt werden muß. Die auf diese Weise festgelegten Eichwerte sind in dem Sinne unbedingt verläßlich, daß sie die tatsächlichen Gewichtsverhältnisse präzise wiedergeben. Falls alle Gewichte des Satzes dasselbe spezifische Volumen haben, sind diese Gewichtsverhältnisse auch von Schwankungen in der Dichte der Atmosphäre unabhängig. Der Anschluß an eine dem internationalen Kilogramm entsprechende Massendefinition muß durch zweckmäßige Berücksichtigung des Auftriebes in Luft gefunden werden.

Literature.

[1] *W. M. Thornton jr.*, J. chem. Educat. **14**, 270 (1937).
[2] *W. M. MacNevin*, J. chem. Educat. **22**, 406 (1945).
[3] *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 153 (1949).
[4] *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 298 (1949).
[5] *Cl. Herbo*, Analyt. Chim. Acta **1**, 254 (1947).
[6] *J. Lindner*, Mikrochem. **34**, 67 (1948).
[7] *W. Felgentraeger* in *K. Scheel*, Handbuch der Physik, Bd. II, S. 142, Elementare Einheiten und ihre Messung. Berlin: J. Springer-Verlag. 1926.
[8] *T. W. Richards*, J. Amer. chem. Soc. **22**, 144 (1900).
[9] *E. Blade*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **11**, 499 (1939).
[10] *W. M. Thornton jr.*, J. chem. Educat. **16**, 157 (1939).
[11] *A. E. Conrady*, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. A **101**, 211 (1922).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Graz.

Zum Nachweis narkotisch wirkender Substanzen in biologischem Material.

Von

R. Fischer und **L. Chalupa.**

(Eingelangt am 11. Februar 1949.)

Unter narkotisch wirkenden Substanzen werden vor allem Schlafmittel der Barbitursäurereihe, ferner Morphin und seine Derivate, eventuell noch Dolantin verstanden. Die Frage nach dem Vorhandensein solcher Stoffe gewinnt Bedeutung in zwei Fällen:

1. Bei der Auffindung eines Bewußtlosen, wobei es von Wichtigkeit ist zu wissen, ob ein und welches Schlafmittel oder Narkoticum eingenommen oder verabreicht wurde. Auf Grund der Untersuchungsergebnisse von Harn, Liquor und Blut kann dann eine zweckmäßige Therapie eingeleitet werden. Bei Auffindung von Veronal z. B. Alkalitherapie mit Infusion von 4% Natriumbikarbonatlösung usw. (s. *Fischer* und *Salzer*,[1] *Henze*[2]). Es genügt hier nicht, lediglich eine Barbitursäureverbindung nachzuweisen, wie dies sonst in einfacher Weise nach dem *Zwicker*schen Verfahren von *Öttel*[3] bzw. *Koppanyi*[4] geschieht.

2. Zur Feststellung der Todesursache, wenn eine Vergiftung mit den genannten Stoffen in Frage kommt, wobei außer dem oben erwähnten Untersuchungsmaterial noch Magen- und Darminhalt und Organe verarbeitet werden.

Bei der Durchführung solcher Untersuchungen unterscheiden wir drei Phasen: Die Extraktion und eventuelle Trennung, die Reinigung und die Identifizierung der Verbindungen.

Während die Extraktion im wesentlichen in bekannter Weise verläuft und auch die Identifizierung an sich heute kein Problem mehr darstellt, haben wir besonderen Wert auf die Reinigung mit Hilfe von Adsorbentien gelegt. Daß diese Art der Reinigung Aussicht auf Erfolg haben dürfte, konnten *Fischer*,[5] *Fischer* und *Iwanoff*[6] beweisen (s. auch *Blok*[7]). In dieser Richtung wurden nun weitere Versuche angestellt, um das Verfahren rationell und praktisch zu gestalten. Außer den Barbitursäure-

derivaten wurden noch einige andere narkotisch wirkende Alkaloide mit einbezogen, so daß auf diese Weise der Analysengang vereinfacht werden konnte.

I. Die Extraktion und Trennung.

Vorauszuschicken ist, daß es unbedingt nötig erscheint, den Äther vorher gründlich von Peroxyden zu reinigen, da diese bei der nachfolgenden Mikrosublimation stören.

A. Beim Nachweis von *Schlafmitteln* je nach Art des Materials arbeitet man in folgender Weise:

1. *Harn:* wird durch Zusatz von Bleiazetat ausgefällt und nach dem Absetzen des Niederschlags filtriert. Das klare, saure Filtrat wird im Perforator mit Äther extrahiert und der Ätherextrakt weiterverarbeitet.

2. *Liquor:* wird nach dem Versetzen mit Kochsalz und Ansäuern mit Salzsäure im Perforator mit Äther extrahiert.

3. *Blut:* wird mit dem 3- bis 4fachen Volumen eines Phosphatpuffers (20 g $Na_2HPO_4 . 7 H_2O$ + zirka 10 ccm H_3PO_4 konz. ad 1000 ccm Wasser; p_H kontrollieren!) von ungefähr $p_H = 3$ versetzt und nach Zusatz von 10% $MgCl_2$ im Perforator mit Äther extrahiert. Das $MgCl_2$ ermöglicht die Extraktion aus den nunmehr zerstörten Blutkörperchen. Auf diese Weise erleichtert man sich die Blutextraktion sehr und die erreichte Acidität hat sich für die Extraktion der Schlafmittel als genügend erwiesen.

4. *Leber und Muskel:* wird im Fleischwolf zerkleinert und nach *Stas-Otto* mit der fünffachen Menge schwach salzsaurem Alkohol am Rückfluß $^1/_2$ Stunde erhitzt. Der durch Abnutschen gewonnene Extrakt wird zur Trockene eingedampft und der Rückstand portionsweise mit etwa 10 ccm absolutem Alkohol versetzt, verrieben und abgedampft, das Aufnehmen in Alkohol wird noch einmal wiederholt. Das Filtrat wird wiederum abgedampft und der Rückstand in 10% NaOH aufgenommen, nötigenfalls filtriert, einmal zum Entfernen des Fettes mit leicht siedendem Petroläther ausgeschüttelt und nach dem Ansäuern mit Äther extrahiert. Der mit Natriumsulfat getrocknete Ätherextrakt wird eingeengt und weiterverarbeitet.

5. *Darm samt Darminhalt:* wird wie Leber und Muskel behandelt, nur stellt man nach Zusatz der Natriumkarbonatlösung das Ganze kalt und trennt etwaige oben schwimmende Fetttropfen durch Filtrieren durch ein feuchtes Hartfilter ab, arbeitet dann wie oben beschrieben weiter. Der Mageninhalt wird filtriert, eingeengt, mit Natronlauge alkalisiert, mit Petroläther extrahiert, angesäuert und mit Äther perforiert.

Berücksichtigt wurden folgende Substanzen: Allylphenyl-barbitursäure, Amytal, Dormovit, Eldoral, Eunarcon, Evipan, Ipral, Luminal,

Noctal, Numal, Pernocton, Phanodorm, Profundol, Rutonal, Sandoptal, Veronal, Proponal.

B. Handelt es sich darum, die beiden oben genannten Gruppen, Barbitursäurederivate und Alkaloide bzw. Morphin nebeneinander zu erfassen und besteht die Notwendigkeit, infolge der geringen zu erwartenden Giftmenge das gesamte Untersuchungsmaterial zu extrahieren (d. h. dasselbe nicht in drei Teile zu teilen und jeweils einen Teil auf Barbitursäurederivate, auf Alkaloide und schließlich auf Morphin zu prüfen), dann verfährt man prinzipiell so, daß man nach Bereitung einer ausschüttelbaren Lösung zuerst aus alkalischem Milieu die Alkaloide mit Äther, eventuell noch mit Chloroform extrahiert, dann ansäuert und die Barbitursäurederivate auszieht und schließlich nach dem Versetzen mit Natriumbikarbonat das Morphin mit Essigester perforiert.

Dieses skizzierte Verfahren kommt wohl meist nur im Falle A 4 und 5 in Frage. Methodik: Beim Harn und Liquor ist die Sache einfach. Zu betonen ist jedoch, daß der salzsaure Harn nach der Extraktion der Schlafmittel mit Äther eine halbe Stunde gekocht werden muß, um das gebundene Morphin zu hydrolysieren, dann erst wird mit Natriumbikarbonat alkalisiert (zirka $p_H = 9$). Blut wird selten auf Alkaloide untersucht, meist auf Schlafmittel (s. oben). Es bleiben daher nur Organe, Magen bzw. Darminhalt. Man arbeitet anfangs wie oben beschrieben, wiederholt den Zusatz von Alkohol höchstens zweimal, engt dann die schließlich erhaltene alkoholische Flüssigkeit zwecks Entfernung des Alkohols ein, alkalisiert und schüttelt aus, ohne vorher zu filtrieren (ausfallende Alkaloide!); dann beginnt man mit dem Ausschütteln der Alkaloide, Heroin wird mit Chloroform aus Natriumkarbonat-alkalischer Lösung extrahiert! In diesen Extrakt gehen auch alle Schlafmittel, die nicht saurer Natur sind, wie z. B. Sulfonal, Bromural, Sedormid, ein Teil des Persedons und der Phenyläthylacetylharnstoff (Abbauprodukt des Luminals). Die drei erstgenannten spielen eine geringe Rolle, da sie entweder obsolet sind oder schwach narkotisch wirken. Die erhaltenen Alkaloide läßt man dann einmal über saures Wasser gehen, wobei das Persedon und der Phenyläthylacetylharnstoff im Äther bleiben. Bei der Extraktion des Morphins im Perforator mittels Essigesters (auch mit Methylenchlorid kann perforiert werden) wird nach dem Alkalisieren mit Natriumbikarbonat öfters das Auftreten einer Gelbfärbung beobachtet, die auf eine Zersetzung des Morphins hindeutet. Es konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß diese auf eine Oxydationswirkung des Äthers im alkalischen Milieu zurückzuführen sei, was besonders dann der Fall ist, wenn der Äther längere Zeit Gelegenheit hat, auf die Flüssigkeit einzuwirken. Extrahiert man jedoch alle drei Substanzen rasch nacheinander an einem Tag (wobei je zwei Stunden für die alkalische und saure und dreieinhalb Stunden für die Natrium-

bikarbonat-alkalische Perforation gerechnet wird), tritt eine Gelbfärbung der Morphinlösung nicht ein; falls man die Alkaloide und Schlafmittel nur im Scheidetrichter ausschüttelt und nur das Morphin perforiert, läßt sich die Extraktion in einem halben Tag durchführen.

II. Reinigung.

Die auf die beschriebene Weise erhaltenen Chloroform- oder Ätherextrakte werden nun adsorptiv gereinigt. Von den bekannten Adsorptionsmitteln kommen für die Reinigung praktisch nur Aktivkohle, Aluminiumoxyd, Fasertonerde (diese wurde nach *Hesse*[8] hergestellt) und Magnesiumoxyd in Frage, da die anderen Mittel die Verunreinigungen nicht im genügenden Maß binden; ausschlaggebend jedoch ist die Wahl des richtigen Lösungsmittels, bzw. eines Gemisches, das die quantitative Elution der Gifte bewerkstelligt. Der Vorteil dieses Verfahrens ist jedoch vor allem darin zu erblicken, daß die übliche umständliche Vorreinigung (*Stas-Otto*) stark abgekürzt wird und infolge Verwendung verschiedener Elutionsmittel auch eine gewisse Trennung der Gifte erfolgen kann.

Die adsorptive Reinigung wird in Röhren von 7 bis 8 mm Lumen, die am Ende verjüngt und mit einem Watte- oder Asbestpfropfen leicht verschlossen sind, durchgeführt. Vom Adsorptionsmittel werden 0,5 g, bei Magnesiumoxyd 0,2 g verwendet und mit dem betreffenden Lösungsmittel befeuchtet, bis dieses durchzutropfen beginnt; dann werden 1 bis 2 ccm der zirka $1‰$igen Giftlösung aufgegossen und die Säule mit zwei- bis dreimal 3 ccm Elutionsflüssigkeit durchgewaschen. Falls unter diesen Bedingungen der Giftstoff ungehindert durchläuft, wurde von negativer Adsorption, falls der Großteil zurückgehalten wird, von positiver Adsorption gesprochen. Sind größere Mengen des Giftstoffes zu erwarten, können auch entsprechend dickere Rohre und mehr Adsorptionsmittel Anwendung finden.

Da bei der oben beschriebenen Extraktion drei verschiedene Extrakte erhalten werden (Alkaloide, Schlafmittel, Morphin) werden diese auch getrennt gereinigt; zweckmäßig werden die Extrakte vor der Reinigung mit Natriumsulfat getrocknet.

α) Der Alkaloidextrakt (Äther, Chloroform) kann nur in wenigen Fällen als solcher Anwendung finden, da aus diesen Lösungsmitteln häufig positive Adsorption eintritt; Kohle scheidet als Adsorbens bei allen Lösungsmitteln aus, da sie positiv adsorbiert.

Folgende Tabelle zeigt die für die übrigen drei Adsorptionsmittel zulässigen Lösungsmittel auf, wobei als allgemein brauchbar Äther und 10% Alkohol, Chloroform und 10% Alkohol und Aceton mit 10% Alkohol bezeichnet werden können. Auch reines Aceton, Methyl- und Äthylacetat ist meist brauchbar, nur Dilaudid wird daraus an Magnesiumoxyd teilweise adsorbiert.

Aceton	Methylacetat	Äthylacetat	Äther + 10 % Alkohol	Chloroform + 10 % Alkohol	Aceton + 10 % Alkohol	Dioxan	Äthylenchlorid	
				Fasertonerde (gewachsene)				
„	„	„	„	„	„	—	—	Dicodid
—	—	—	—	„	—	„	—	Dilaudid
„	„	—	„	„	„	(„)	—	Dionin
„	„	„	„	„	„	—	„	Eucodal
„	„	—	„	„	„	(„)	—	Codein
—			„	„	„			Heroin
				Aluminiumoxyd „Merck"				
„	„	„	„	„	„	—	—	Dicodid
—	—	—	—	„	—	(„)	—	Dilaudid
„	„	—	„	„	„	„	—	Dionin
„	„	„	„	„	„	—	(„)	Eucodal
„	„	—	„	„	„	(„)	—	Codein
„	(„)	„	„	„	„			Heroin
				Magnesiumoxyd				
„	„	„	„	„	„	„	Chloroform	Dicodid
(„)	(„)	(„)	„	„	(„)	(„)		Dilaudid
„	„	„	„	„	(„)	„	Äthylenchlorid	Dionin
„	„	„	„	„	„	(„)	(„) (Benzol)	Eucodal
„	„	„	„	„	„	„	Benzol Äthylenchlorid	Codein

In dieser Tabelle sind die Lösungsmittel, bei denen negative Adsorption besteht, die also gut brauchbar sind, angeführt. Falls die Adsorption $\pm$ ist, d. h. ein Teil der Substanz adsorbiert wird, steht der Name des Lösungsmittels in Klammern. Falls die Substanz positiv adsorbiert wird, d. h. im Filtrat nichts nachweisbar ist, findet sich in der Tabelle ein Minus.

Heroin wird mit Chloroform aus Natriumkarbonat-alkalischer Lösung gewonnen. Man muß rasch arbeiten, um eine Verseifung durch das Alkali hintanzuhalten, daher ist auch Natronlauge als Alkalisierungsmittel zu vermeiden.

Dolantin, das aus alkalischem Milieu mit Äther oder besser mit Chloroform extrahiert wird, ist leicht zu reinigen: Bei Verwendung von Chloroform als Lösungsmittel ist Kohle, Fasertonerde, Aluminiumoxyd und Magnesiumoxyd brauchbar. Bei Verwendung von Äther ist Fasertonerde,

Aluminiumoxyd, Magnesiumoxyd verwendbar. Es erübrigt sich daher die Prüfung mit den anderen Lösungsmitteln.

Zu betonen ist noch, daß die verwendeten Lösungsmittel absolut rein und trocken sein müssen, insbesondere soll das Chloroform keinen Alkohol enthalten, da schon $^1/_2$ bis 1% die Elution wesentlich ändern.

β) Der Schlafmittelextrakt läßt sich in einfacher Weise reinigen, da die Chloroformlösung aller Schlafmittel (Barbitursäurederivate) über Kohle gegossen werden kann, wobei jedoch auch hier mit dreimal 3 ccm Chloroform zu waschen ist, auch Äther ist für diese Zwecke brauchbar. Bei Magnesiumoxyd, das besonders für Harn, Blut und Liquor eine gute Reinigungskraft besitzt, ist reines Chloroform ungünstig, während Äther bei mindestens dreimaligem Nachwaschen bei allen Schlafmitteln gute Resultate liefert. Vorsichtshalber jedoch wird man mit Äther und 10% Alkohol nachwaschen, falls der Extrakt aus Chloroform besteht.

Man wird daher bei der Schlafmittelreinigung zwei Schichten, oben Magnesiumoxyd, darunter Kohle, verwenden, zuerst mit Äther nachwaschen, dann noch Chloroform nachgießen, so daß praktisch alle Schlafmittel eluiert werden. Zur Vorsicht kann man mit Äther und 10% Alkohol oder mit Chloroform und 10% Alkohol nachwaschen, falls durch irgendwelche Begleitstoffe die Elution gestört sein sollte. Die schlafmittelhaltigen Extrakte werden eingeengt und in üblicher Weise der Mikrosublimation unterworfen (*Fischer*[9,10]). Man erhält so die nochmals gereinigte Substanz in schönen Kristallen, die nun identifiziert werden.

Es wurde ferner die Beobachtung gemacht, daß in Mikrosublimaten Tröpfchen auftreten, die aus Cholesterin bestehen, wie mit Hilfe von Digitonin leicht zu beweisen war (Bildung feiner Nadeln des Cholesterindigitonids nach Zusatz von Digitonin in 85% Alkohol). Um auch das Cholesterin zu entfernen, wurde der Adsorptionssäule noch Digitonin zugesetzt. Um zu beweisen, daß das Cholesterin auf diese Weise wirklich entfernt wird, verrieben wir 0,1 g Magnesiumoxyd mit 10 mg Digitonin innig und übergossen das Gemisch im Adsorptionsrohr mit einer ätherischen Cholesterinlösung, die 1 bis 2 mg Cholesterin enthielt. Im Filtrat konnte kein Cholesterin nachgewiesen werden.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß der zur Extraktion verwendete Äther völlig rein sein muß, besonders keine Peroxyde enthalten darf, da die Peroxyde bei denselben Temperaturen wie die Schlafmittel flüchtig sind und sich als Tropfen im Sublimat abscheiden können. Peroxydfreien Äther gewinnt man durch Stehenlassen von käuflichem Äther mit Ferrosulfat (pulverisiert), anschließender Behandlung mit Kaliumhydroxyd und Destillation. Allenfalls kann eine nochmalige Destillation über Kalziumchlorid oder Natriummetall angeschlossen werden. Aufbewahrung zweckmäßig über Natriummetall.

γ) Beim Essigesterextrakt des Morphins (*Oberst*[11]) kann die Reinigung lediglich nach Verdunsten des Lösungsmittels und Aufnehmen mit Chloroform und Alkohol erfolgen, wobei keine Kohle, sondern nur Fasertonerde, Aluminiumoxyd und Magnesiumoxyd Verwendung finden. Außerdem kann eine Lösung in Aceton und Isopropanol über Magnesiumoxyd gegossen werden.

Die Trennung bei Einwaagen von je 10 mg Reinsubstanz, z. B. Eucodal — Veronal — Morphin, ergaben Fehler von 2%, 1 bis 2% und 4%, mit Rücksicht auf die geringe Einwaage recht befriedigend. Die Identifizierung erfolgt bei den Alkaloiden, Morphin und Dolantin mittels bekannter Mikromethoden, wie Bestimmung des Schmelzpunktes, kristalloptischer Konstanten und der eutektischen Temperatur (siehe *Kofler*[12]).

Bei den meisten Alkaloiden besteht die Möglichkeit, nach der Reinigung den Rückstand zwecks Erzielung schöner Kristalle der Mikrosublimation zu unterwerfen; auch die Herstellung von Derivaten erlaubt die Gewinnung schöner Kristalle, die dann weiter identifiziert werden.

In der folgenden Tabelle sind alle zur Identifizierung nötigen Daten angegeben:

a) Alkaloide.

Substanz	Sublim.-Temp. Vacuum 15 mm Hg in ° C	Kristallform	Auslöschungs- und Schwingungsrichtung	Fp. Base	Eutektikum der Base mit		
					a) Benzanilid	b) Eucainpikrat	c) Salophen
				in ° C			
Heroin . .	140—145	Aggregate kurzer Nadeln	gerade γ-längs	170—171*	135*	153	152 -153
Acedicon	160—170	körnige vieleckige Kristalle	α-längs gerade	195 wasserfrei	139	153—154	133—134
Dicodid .	130—140	Prismen und Stengel	gerade α-längs	195 Sublimat ab 170°	137—138	157	157—158
Eucodal .	140—150	kurze Prismen	gerade γ-längs	217—218	143	175—177	165
Dilaudid	170	derbe Prismen und Körner	α-längs	257 u. Z. Sublimat 240—245 u. Z.	159 unscharf	182—184	172—173
Codein . .	150	rechteckige Körner	—	156* wasserfrei	126*	136—137	140—141

* Die bezeichneten Zahlen stammen aus *Kofler*.[12]

Das *Codeinpikrolonat*, durch Fällung mit Pikrolonsäurelösung auf dem Objektträger hergestellt, zeigt einen Fp. von 212 bis 232°, meist 220 bis 224° (*Kofler* und *Müller*[13]).

Die mit Äther und Chloroform aus alkalischem Milieu ausschüttelbare Dolantinbase ist zur Identifizierung unbrauchbar. (Fp. des Dolantins als Hydrochlorid ist 185 bis 190°.) Sie läßt sich jedoch als Pikrolonat (mit Pikrolonsäure gesättigt in 20%igem Alkohol) auf dem Objektträger fällen: man erhält schöne Nadelbüschel, Fp. 197 bis 198,5°. Das Eutektikum mit Salophen ist 165 bis 166°, das mit Bernsteinsäure 163 bis 164°.

γ) *Morphin* (HCl: Fp. 285 bis 300° u. Z.) Fp. Base: 245 bis 255° u. Z. Die Base sublimiert im Vacuum bei 160°, das Eutektikum mit Salophen beträgt 156 bis 157°*. Das wie oben erhaltene Pikrolonat schmilzt bei 190 bis 191°* und gibt ein Eutektikum mit Salophen von 158 bis 159°, mit Bernsteinsäure bei 131 bis 132°. Außerdem läßt sich der Dinitrophenyläther leicht herstellen, indem man den Verdunstungsrückstand in einigen Kubikmillimetern einer zirka $^1/_2$%igen Lösung von Dinitrochlorbenzol in 50%igem Aceton (hergestellt aus einer 1%igen Lösung in Aceton durch Verdünnen mit Wasser) löst, ein Sechstel des Volumens 10%igen Ammoniak zusetzt, das Gemisch in einer Kapillare aufsaugt und 2 bis 3 Stunden stehen läßt (eventuell zuschmilzt). Die erhaltenen schönen Kristalle des Dinitrophenyläthers werden nach dem Ausblasen der Kapillare über dem Objektträger mit Aceton, Wasser und nochmals Aceton in üblicher Weise gewaschen und, da der Schmelzpunkt der Verbindung unscharf ist, gleich das Eutektikum bestimmt: Man findet 145 bis 150° mit Bernsteinsäure und 129 bis 131° mit 3,5-Dinitrosalicylsäure. Man kann sich auch die Kapillare ersparen, indem man die Reagenztropfen auf dem Objektträger mit dem auf Morphin zu prüfenden Verdunstungsrückstand zusammenbringt und, um das Verdunsten des Acetons zu vermeiden, den Objektträger in eine feuchte Kammer mit Aceton und etwas Ammoniak bringt, oder als Hängetropfen über einen Mikrobecher legt, der ebenfalls Aceton und Ammoniak enthält. Auf diese Weise fallen schöne Kristalle aus.

An dieser Stelle sei noch erwähnt, daß es bei Giften, die z. B. mit Pikrinsäure oder, wie es beim Morphin der Fall ist, mit Pikrolonsäure Addukte geben (*Hesse*[8]), möglich ist, durch Aufgießen des gelösten Addukts (Morphin-Pikrolonat löst sich z. B. in Chloroform-Isopropanol) auf eine Aluminiumoxydsäule das reine Morphin als Durchlauf zu gewinnen, wobei eine quantitative Spaltung eintritt und die Pikrolonsäure in der Säule zurückbleibt, eventuell wäscht man noch vorsichtig mit Chloroform nach. Allerdings muß die verwendete Pikrolonsäure (in Aceton

---

* Diese Zahlen stammen von *Kofler*.[12]

gelöst) über Aluminiumoxyd gereinigt werden; man beobachtet nämlich beim Durchgießen einer Pikrolonsäurelösung, daß wohl der Hauptteil am oberen Ende der Säule als gelbe Zone zurückgehalten wird, daß jedoch eine geringe Menge mit rötlich oranger Färbung durchläuft und somit die Reinheit des durchlaufenden Morphins stören würde. Man stößt daher die obere rein gelbe Zone heraus und eluiert bzw. extrahiert mit Aceton, das etwas HCl enthält; so erhält man einheitliche Pikrolonsäure, die im Aluminiumoxyd fest haften bleibt und nicht durchläuft. Die neuen Morphinderivate Permonid und Metopon konnten leider nicht in den Gang aufgenommen werden, da sie uns noch nicht zur Verfügung standen.

δ) Die Identifizierung der Schlafmittel erfolgt auf Grund der bei der Mikrosublimation erhaltenen Kristalle. Wenn auch bei der Extraktion, besonders bei Organen, darauf geachtet wird (s. weiter unten), daß keine Fette, die etwa in Tröpfchen sublimieren könnten, oder etwas Lecithin, das Fettsäuren einschließt, in die Extraktionsflüssigkeit (Äther oder Chloroform) gelangen, kann es doch passieren, daß bei Anwendung von Natronlauge Spuren von Fettsäuren zur Sublimation gelangen. Um diese zu entfernen, empfiehlt es sich zuweilen, den Rückstand des Ätherextrakts zusammen mit wenig Bleioxyd zu sublimieren, wobei die Säuren zurückgehalten werden, falls dies nicht schon bei Spuren durch das Magnesiumoxyd erfolgte. Diesbezügliche Versuche mit Ölsäure hatten das erwartete Ergebnis: 1 ccm einer 1%igen Ölsäure-Äther-Lösung wurden zusammen mit 0,01 g Bleioxyd am Sublimationsapparat verdunstet. Bei der anschließenden Sublimation konnten bis 170° keine Spur von Tropfen beobachtet werden, während ohne Bleioxydzusatz eine Menge von öligen Tröpfchen sich auf dem Deckglas abschied. Schlafmittel wurden von Bleioxyd nicht zurückgehalten. Größere Mengen von Ölsäure würden von Aluminiumoxyd aus Aceton, Aceton-Äthanol und Chloroform mit 20% Äthanol zurückgehalten. Von den erhaltenen Kristallen wird nach Berücksichtigung der Sublimationstemperatur die *Auslöschungs-* und *Schwingungsrichtung* bestimmt und schließlich der Schmelzpunkt. [Da es sich oft um dünne Mikrosublimate handelt, gelingt die Bestimmung des Brechungsindex mit Glaspulvern (*Kofler*[12]) meist nicht.] Die gute Sublimierbarkeit der Barbitursäurederivate — die andern Schlafmittel, außer Dilantin und Persedon, möchte ich hier wegen der Harmlosigkeit nicht besonders erwähnen — wirkt sich zuweilen nachteilig aus, höher schmelzende Schlafmittel (etwa über 150°) lassen oft nicht den Schmelzpunkt erreichen, da sie sich vorher verflüchtigen. Die Bestimmung der eutektischen Temperatur könnte hier Abhilfe schaffen; leider liegen die Eutektika — was bei den nahe verwandten Barbitursäurederivaten begreiflich ist — ziemlich nahe beisammen, so daß mit einer einzigen Testsubstanz nicht das Auslangen gefunden werden kann und auch bei mehreren die Ergebnisse nicht völlig befriedigen.

Folgende Tabelle zeigt einige Gruppen hochschmelzender und daher flüchtiger Barbitursäurederivate und deren Eutektika mit vier Testsubstanzen:

Schlafmittel	Fp	Eutektika mit:			
		Benzanilid*	Bernsteinsäure	Phenacetin*	Zimtsäure
Amytal	156	128	141—142	112	106
Allylphenylbarbitursäure	159	130	143	108	112—113
Dormin	160	134	141—142	115	115
				Salophen*	
Dormovit	172—173	137	146—147	154	116
Phanodorm	173	136	135—136	151 (143)	109
Dial	174	142	152—154	156	120—121
Luminal	174—175	137	152—154	155	120—121
Prominal	179	138	161—163	157	118
Noctal	183,5	142	157	158	122
Veronal	190	147—148	156—158	163	123—124
Eldoral	217		170	180	
Rutonal	226		173	175	
Nirvanol	199		163	167	
Ipral	204		168	165	

Wie man ersieht, liegen eine Anzahl von eutektischen Temperaturen recht nahe beisammen. Man könnte auch daran denken, einzelne Schlafmittel selbst als Testsubstanzen zu verwenden. Es besteht jedoch die Gefahr, daß man zwei Barbitursäuren verwendet, die isomorph nach Typus I sind, z. B. Dial—Dormin (*Brandstätter*[14]), oder daß die vielen Modifikationen gegenseitig stören. Jedenfalls vergewissert man sich zum Schluß mit der γ-Probe (*Kofler*[15]), ob wirklich Identität mit der vermuteten Substanz besteht. Nach all dem wird man aber auf die von *Fischer*[9] seinerzeit angegebenen Konstanten, wie Auslöschung und Schwingungsrichtung, nicht verzichten können.

Schließlich seien noch drei neuere Schlafmittel samt ihren Löslichkeiten und Eigenschaften angegeben:

Persedon, Diäthyldioxotetrahydropyridin:

Sublimationstemperatur Vac. 75 bis 80°, Fp. = 92°, Eutektikum mit Benzil 70 bis 71°, Eutektikum mit Phenacetin 76 bis 77°.

Mikrosublimat: Prismen und Nadeln, Auslöschung gerade, γ-längs. Persedon geht zum Teil aus alkalischem Milieu in Äther und Chloroform, die Hauptmenge aus saurem Milieu. Die adsorptive Reinigung erfolgt in Äther oder Chloroform über Kohle und Magnesiumoxyd, eventuell nach Waschen unter Zusatz von 10%igem Alkohol.

* Diese Eutektika stammen von *Kofler*.[12]

Pentothal, Äthyl-methyl-butyl-thiobarbitursäure:

Sublimationstemperatur Vac. 110 bis 120°, Fp. = 150 bis 158 (wechselnd).

Eutektikum mit Phenacetin 116°, mit Benzanilid 130 bis 131°, mit Evipan 116°, flache leistenförmige zugespitzte Kristalle, Auslöschung gerade, γ-längs. Pentothal geht aus saurem Medium in Äther und Chloroform, Reinigung wie oben.

Dilantin, Diphenylhydantoin:

Sublimationstemperatur Vac. um 160°, Fp. 295°.

Eutektikum mit Bernsteinsäure 184°, mit Dicyandiamid 203°, Mikrosublimat Prismen und Stengel, Auslöschung gerade, α-längs. Dilantin geht mit Äther und Chloroform aus saurem Medium, Reinigung wie oben.

Ferner sei hier eine Substanz erwähnt, die als Abbauprodukt des Luminals im Harn auftreten kann: der Phenyläthylacetylharnstoff. Sublimationstemperatur Vac. 110°, Fp. = 148°, Eutektikum mit Phenacetin 117°, Mikrosublimat gerade und gekrümmte Nadeln, Auslöschung gerade, γ-längs. Die Substanz geht aus alkalischem Medium in den Äther.

Nach den angegebenen Verfahren wurden Harn, Blut, Darminhalt, Organteile (Leber, Muskel), denen vorher die betreffenden Gifte zugesetzt waren, untersucht. Da im allgemeinen frisches Material keine besonderen Schwierigkeiten macht und sich daher das neue Reinigungsverfahren nicht augenfällig bewähren konnte, wurde das Untersuchungsmaterial vorher der Fäulnis unterworfen und zuerst ohne, dann mit Zusatz von Giften verarbeitet. Im ersten Falle wurde die Reinigungskraft der verschiedenen Adsorptionsmittel geprüft und in den meisten Fällen folgende Reihenfolge der Brauchbarkeit erhalten:

Als am besten wirksam wurde Kohle befunden, was ja zu erwarten war; es folgt dann das Magnesiumoxyd, Aluminiumoxyd und Fasertonerde. Hinsichtlich ihrer Eluierbarkeit verhalten sich die einzelnen Gruppen verschieden; es sei auf die vorhergehenden Abschnitte verwiesen. Leider ist es nicht möglich, in allen Fällen das am besten reinigende Adsorptionsmittel zu wählen.

In dieser Richtung angestellte Versuche ergaben unter Verwendung von etwa 10 mg Substanz und 100 g Untersuchungsmaterial folgende Verlustprozente als Durchschnitt mehrerer Versuche:

Bei den Alkaloiden..... 10%,
bei den Schlafmitteln 5%,
beim Morphin ..... 10%.

Berücksichtigung fanden bei diesen Versuchen hauptsächlich Magen- und Darminhalt, Leber bzw. Muskel. Bei Flüssigkeiten, wie Harn, Blut,

Liquor, die durch Perforation zu extrahieren sind, verringern sich die Verluste etwa auf die Hälfte. Über die weitere Anwendung der Adsorption bei der toxikologischen Analyse unter Verwendung von Eisessig und Kohle bzw. Wofatit soll in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

Zusammenfassung.

Die zur Ermittlung von Substanzen, wie Barbitursäure-, Morphinderivate und Dolantin aus Leichenteilen und anderem Untersuchungsmaterial vorgenommene Extraktion ergibt wenig neue Gesichtspunkte. Die Reinigung wird jedoch durch die systematische Anwendung von Adsorbentien, wie Fasertonerde, Aluminiumoxyd, Magnesiumoxyd und verschiedene organische Lösungsmittel rationell gestaltet, wobei im Vergleich zum gewöhnlichen *Stas-Otto*-Gang die Verluste und der Arbeitsaufwand geringer, die Reinheit der isolierten Substanzen jedoch größer ist. Zur Herstellung von Kristallen wird die Mikrosublimation herangezogen oder es werden Kristallderivate hergestellt, die dann nach bewährten Verfahren durch Mikroschmelzpunkt, eutektische Temperatur und kristalloptische Konstanten identifiziert werden. Versuche mit gefaultem Material ergaben befriedigende Ergebnisse.

Literatur.

[1] *R. Fischer* und *H. Salzer*, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **182**, 170 (1936).
[2] *C. Henze*, Dtsch. med. Wschr. **46**, 1878 (1936).
[3] *H. Oettel*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **247**, 1 (1936).
[4] *Koppanyi, Murphy, Krop*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **31**, 373 (1933).
[5] *R. Fischer*, Mikrochem. **26**, 255 (1939).
[6] *R. Fischer* und *W. Iwanoff*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **281**, 361 (1944).
[7] *C. J. Blok*, Pharmac. Weekbl. **78**, 1025 (1941).
[8] *G. Hesse*, Adsorptionsmethoden in chem. Labor. Berlin: De Gruyter. 1943.
[9] *R. Fischer*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **277**, 305 (1939).
[10] *R. Fischer*, Mikrochem. **15**, 64 (1934).
[11] *F. W. Oberst*, J. Pharmacol. exp. Therap. **74**, 37 (1942), zit. n. Chem. Zbl. **1943 I**, 2316.
[12] *L. Kofler*, Mikromethoden zur Kennzeichnung und Bestimmung organischer Verbindungen. Innsbruck: Wagners Universitäts-Verlag. 1948.
[13] *L. Kofler* und *F. A. Müller*, Mikrochem. **22**, 43 (1937).
[14] *M. Brandstätter*, Z. physik. Chem. **191**, 227 (1942).
[15] *L. Kofler*, Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 1096 (1943).

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der Universität und dem Institut für Lebensmittelchemie und biochemische Technologie der Technischen Hochschule Graz.

Die gravimetrische und maßanalytische Mikrobestimmung von Kalzium mit Cyanoferrat(II)-Ion.

Von

H. Flaschka und **H. Spitzy.**

(Eingelangt am 12. Februar 1949.)

Das Kalzium bildet mit zahlreichen Anionen einfache oder Doppelverbindungen, die sich durch Schwerlöslichkeit und hohes Molekulargewicht auszeichnen. Diesen für eine gravimetrische Anwendung sehr vorteilhaften Punkten stehen Nachteile gegenüber, die eine Verwendung nur in wenigen Fällen zulassen. Es sind hier hauptsächlich zwei Schwierigkeiten, die hindernd im Wege stehen. Erstens fallen die Verbindungen äußerst feinkristallin oder sogar schleimig, was das Filtrieren und Waschen erschwert, bisweilen sogar unmöglich macht. Zweitens haben die Niederschläge und vor allem der in Lösung gebliebene Überschuß des Fällungsmittels die Tendenz, sich zu zersetzen. Im hier zu behandelnden Falle der Bestimmung von Kalzium hat es sich aber gezeigt, daß beide Mißstände durch Wahl geeigneter, leicht einzuhaltender Versuchsbedingungen ausgeschaltet werden können.

F. Feigl und *F. Pavelka*[1] gaben eine nephelometrische Bestimmung von Kalzium (und Magnesium) unter Verwendung von Ammoniumcyanoferrat(II) an. Der Anwendung nephelometrischer Verfahren sind aber gewisse Grenzen gesetzt, so daß es durchaus lohnend erschien, diese sowie die analog gebaute Kaliumverbindung auch als Grundlage anderweitiger quantitativer Methoden zu verwenden.

T. Gaspar[2] bestimmte Erdalkalien und Alkalien als Doppelcyanoferrate gewichts- und maßanalytisch und bediente sich für die Fällung von Kalzium (und Magnesium) u. a. des Caesium- und Rubidiumcyanoferrates.

Die Brauchbarkeit der weiter oben genannten Verbindungen zur makromaßanalytischen Bestimmung von Kalzium wurde von *H. Flaschka*[3]

unter Beweis gestellt (dortselbst auch weitere Literaturangaben). Daß die erwähnten Doppelsalze für mikroanalytische Bestimmungen sehr gut geeignet sind, soll im nachstehenden gezeigt werden. Leider verhält sich Magnesium dem Cyanoferrat(II)-Ion gegenüber gleich wie das Kalzium. Eine Trennung der beiden auf diesem Wege ist trotz der verschiedenen Säurelöslichkeit der Komplexsalze nicht gelungen. Man muß daher vor der Kalziumbestimmung das Magnesium entfernen, was am einfachsten unter Verwendung von Oxin geschieht, da der bleibende Überschuß dieses Reagens auf die Fällung des Kalziums ohne Einfluß ist.

Wie schon erwähnt, können für die gravimetrische Bestimmung des Kalziums zwei Wege beschritten werden. Einmal durch Fällung als $CaK_2[Fe(CN)_6]$ und zum anderen als $Ca(NH_4)_2[Fe(CN)_6]$. Beide Salze sind in 50%igem Alkohol praktisch unlöslich. *F. Feigl* und *F. Pavelka*[1] geben für die Bildung des Ammoniumsalzes eine Grenzkonzentration von 1 : 1 000 000 an. Die Zahlen für das Kaliumsalz liegen in derselben Größenordnung. Die Fällung kann in schwach saurem bis schwach alkalischem Medium vorgenommen werden.

Für die gravimetrische Bestimmung geben wir im allgemeinen dem Kaliumsalz wegen der besseren Filtrierbarkeit den Vorzug. Bedingung für die Anwendung dieser Fällungsform ist die Abwesenheit von Ammonsalzen. Die Freiheit von Ammonsalzen ist aber, besonders wenn es sich um die Kalziumbestimmung in der Folge eines Trennungsganges handelt, nur sehr selten gegeben. In diesem Falle steht Ammoniumcyanoferrat(II) als Fällungsmittel zur Verfügung. Das an sich mögliche Abrauchen der Ammonsalze bzw. ihr Vertreiben durch Kochen mit Natronlauge bedeutet Zeitverlust, birgt die Gefahr eines Fehlers in sich und kann so vermieden werden.

Bei gleichzeitigem Vorhandensein von Kalium- und Ammonsalzen in der Lösung kommt es zur Bildung von Mischsalzen, die nicht zu einer formelreinen Wägeform führen, so daß man in diesem Falle um die Entfernung der Ammonsalze nicht herumkommt. Für die titrimetrische Bestimmung ist dies belanglos (siehe später). Die Anwesenheit von Natrium und Lithium ist ohne Einfluß (Rubidium und Caesium lassen wir wegen ihrer Seltenheit außer Betracht), Barium und Strontium stören. Oxydierende Stoffe dürfen in der Lösung selbstverständlich nicht vorhanden sein.

A. Gewichtsanalytische Bestimmung mit Kaliumcyanoferrat(II).

Die Fällung geht nach folgendem Reaktionsschema vor sich:

$$Ca^{+2} + 2\,K^{+1} + [Fe(CN)_6]^{-4} = CaK_2[Fe(CN)_6].$$

Das gefällte Doppelsalz ist von rein weißer Farbe, in 50%igem Alkohol sowie Aceton praktisch unlöslich und läßt sich bei 105 bis 110° C ohne Zersetzung trocknen. Es ist sehr gut filtrierbar. Der Kalziumgehalt

der Verbindung beträgt 12,13 %, womit ein sehr günstiger analytischer Faktor gegeben ist (log $F = 0{,}08413 - 1$). Zum Fällen und Filtrieren wurden der Jenaer Mikrofilterbecher nach *E. Schwarz-Bergkampf*,[4] Spitzröhrchen in Verbindung mit der Filtrierpipette (Porzellanfilterstäbchen) nach *G. Gorbach*[5] und Porzellanfiltertiegel A_2 verwendet. Bei den beiden erstgenannten Geräten ist man an ein bestimmtes Flüssigkeitsvolumen gebunden, was gegebenenfalls ein Einengen der vorliegenden Lösung nötig macht. Kaliumcyanoferrat(II) ist in 50%igem Alkohol verhältnismäßig wenig löslich. Beim Arbeiten in einem kleinen Flüssigkeitsvolumen besteht daher die Möglichkeit, daß es bei einem Zuviel an Fällungsmittel ausfällt. Es läßt sich dann nur sehr schwer wieder auswaschen. Um dieser Gefahr von vornherein zu begegnen, empfiehlt es sich, besonders wenn die zu bestimmende Kalziummenge völlig unbekannt ist, in etwas größeren Flüssigkeitsmengen zu arbeiten, denen bei Gebrauch von A_2-Tiegeln keine Grenze gesetzt ist.

Für die Durchführung der Bestimmung hat sich nachstehende Arbeitsvorschrift als die geeignetste erwiesen:

Die vorliegende, ammonsalzfreie, schwach saure Probelösung wird durch tropfenweisen Zusatz von Natronlauge auf einen p_H-Wert von etwa 8 (Neutralrot) gebracht und mit dem gleichen Volumen an 96%igem Alkohol versetzt. Nunmehr erwärmt man auf dem Wasserbad auf 50° C und fällt unter Rühren mit einer nicht zu alten, gesättigten Lösung von Kaliumcyanoferrat(II) in 20%igem Alkohol. Der Niederschlag setzt sich rasch ab und in der nur mehr schwach trüben, überstehenden Flüssigkeit kann mit einem weiteren Tropfen Reagens auf Vollständigkeit der Fällung geprüft werden. Die Filtration kann sofort nach der Fällung erfolgen. Gewaschen wird mit warmem, 50%igem Alkohol bis zum Ausbleiben der Berlinerblau-Reaktion. Nach 15 Minuten Trocknen bei 105° C und Abkühlen im Exsikkator wird gewogen.

B. Gewichtsanalytische Bestimmung mit Ammoniumcyanoferrat(II).

Die Reaktion verläuft nach der Gleichung:

$$Ca^{+2} + 2\ NH_4^{+1} + [Fe(CN)_6]^{-4} = Ca(NH_4)_2[Fe(CN)_6].$$

Unter den Bedingungen, wie sie später angeführt werden, fällt die Verbindung ohne Kristallwasser aus, wie den folgenden Analysendaten zu entnehmen ist:

	gefunden	*theoretisch*
Ca^{+2} als Oxalat	13,94%	13,91%
NH_4^{+1} nach *Kjeldahl*	12,44%	12,52%
$[Fe(CN)_6]^{-4}$ titriert mit $KMnO_4$	73,51%	73,57%
	99,89%	100,00%

Der Niederschlag ist leicht gelblichweiß, sehr feinkristallin, aber bei hohem Gehalt der Lösung an Ammonchlorid gut filtrierbar. Wegen der Gefahr einer geringfügigen Zersetzung des überschüssigen Fällungsmittels darf eine Temperatur von 50° C während des Arbeitens im flüssigen Medium keinesfalls überschritten werden. Als Fällungsmittel dient eine 10- bis 15%ige, schwach ammoniakalische, wäßrige Lösung von Ammoniumcyanoferrat(II).*

Bei der Durchführung einer großen Zahl von Analysen gelangten die im Abschnitt A genannten Geräte zur Verwendung. Da das Ammoniumcyanoferrat(II) in 50%igem Alkohol eine erheblich größere Löslichkeit aufweist als das entsprechende Kaliumsalz, ist das oben erwähnte Gefahrenmoment des Ausfallens von überschüssigem Fällungsmittel nicht gegeben, so daß sich hier die Verwendung von Spitzröhrchen oder Filterbecher als vorteilhaft erwiesen hat.

Bei einer Kalziumbestimmung verfahre man wie folgt:

Die kaliumsalzfreie, saure Probelösung wird mit festem Ammonchlorid versetzt und gegen Neutralrot mit Ammoniak neutralisiert. Nach Zugabe des gleichen Volumens an 96%igem Alkohol wird auf 50° C auf dem Wasserbad erwärmt (nicht höher!). Unter Rühren erfolgt tropfenweiser Zusatz des Fällungsmittels. Man filtriert, wäscht mit 50%igem Alkohol, dem etwas Ammonchlorid zugegeben ist, bis zum Ausbleiben der Berlinerblau-Reaktion, trocknet 15 Minuten bei 105° C und wägt nach dem Abkühlen im Exsikkator ($\log F = 0{,}14338 - 1$ entsprechend einem Kalziumgehalt des Niederschlages von $13{,}91_2\%$).

C. Titrimetrische Bestimmung des Kalziums.

M. Fiorentino und *P. Boni*[7] haben eine mikromaßanalytische Bestimmung von Cyanoferrat(II) mit Kaliumpermanganat unter Verwendung von Setopaline** beschrieben. Der Umschlag dieses Redoxindikators von grünlichgelb auf intensiv goldgelb ist sehr leicht zu beobachten und gestattet eine sehr genaue Titration. Diese ist an sich ohne den Indikator möglich, doch sind auch unter Berücksichtigung der üblichen Indikationskorrektur die Streuungen bei Parallelbestimmungen größer. Da aber das Umrechnungsverhältnis $Ca : [Fe(CN)_6] = 1 : 1$, also für eine Titration nicht sonderlich günstig ist, ist auf scharfe Erkennbarkeit des Endpunktes um so mehr zu achten.

---

* Die Verbindung wurde wie folgt gewonnen: Ferrocyanwasserstoffsäure (dargestellt nach *Vanino*[6] wurde in konz. Ammoniak unter Kühlen gelöst, filtriert und das Salz mittels Alkohol gefällt. Das Fällungsreagens erweist sich unter gutem Verschluß im Dunkeln aufbewahrt als gut haltbar.

** Der Herstellerfirma I. Geigy, Basel, sei für die freundliche Überlassung des Präparates auch an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen.

Trotz dieses ungünstigen Umrechnungsverhältnisses (gegenüber der Oxalattitration) bietet unseres Erachtens diese Methode wegen der Vollständigkeit der Fällung und der Unempfindlichkeit gegen ein Zuviel oder Zuwenig an Waschflüssigkeit neben erheblichem Zeitgewinn Vorteile (Dauer einer Bestimmung etwa 20 Minuten).

Für die Titration ist es belanglos, ob die Lösung Kalium- bzw. Ammonsalze oder beide enthält, und es ist auch einerlei, ob man das eine oder andere der obenerwähnten Fällungsreagenzien verwendet. Das Verhältnis von Ca : $[Fe(CN)_6]$ bleibt immer 1 : 1. Damit ergibt sich für die Berechnung der Analyse:

$$\text{ml n/10 } KMnO_4 \cdot 4{,}008 = \text{mg Ca } (\log F = 0{,}60293).$$

Bei Verwendung des Indikators Setopaline erhält man auch mit n/100 $KMnO_4$-Lösungen durchaus brauchbare Werte. Wegen der Nachteile, die stark verdünnte Maßlösungen bei Mikrotitrationen mit sich bringen (vgl. *I. Mika*[8]), empfiehlt sich die Verwendung von n/10 Maßlösungen unter Gebrauch der hahnlosen Mikrobürette nach *G. Gorbach*[9].

Um beim Arbeiten in Spitzröhrchen die Titration daselbst durchführen zu können, wurde untersucht, ob die genaue Einhaltung der Vorschrift von *M. Fiorentino* und *P. Boni*[7] hinsichtlich Volumen und Konzentration unbedingt vonnöten ist. Es zeigte sich, daß bei entsprechender Verminderung der Indikator- und Schwefelsäuremenge die Titration auch in Volumen von wenigen Millilitern durchführbar ist.

Im einzelnen gestaltet sich die titrimetrische Bestimmung wie nachstehend beschrieben:

Die Fällung wird nach einem der oben gegebenen Verfahren durchgeführt und der Niederschlag wie beschrieben filtriert und gewaschen. Zur Entfernung jeglicher Alkoholspuren, die auf Permanganat-Ion reduzierend wirken würden, muß zweimal mit Aceton nachgewaschen werden. Der Hauptteil des Niederschlages wird nun mit dem Strahl einer Spritzflasche von der Filterplatte in das Titriergefäß gespritzt. Die letzten Reste werden durch wenige Tropfen verdünnte Schwefelsäure (1 : 20) herausgelöst. Nun verdünnt man gegebenenfalls auf ein Volumen von etwa 20 ml, setzt 7 Tropfen Indikatorlösung (Setopaline 0,1%ig in H_2O) und 1 ml 18-n-Schwefelsäure zu und titriert.

Bei einer Titration im Spitzröhrchen ist eine entsprechende Verminderung der Zusätze vorzunehmen.

Beleganalysen.

Soweit in den Tabellen 1, 2 und 3 nicht anders vermerkt, kam jeweils 1 ml (*Pregl*sche Auswaschpipette) einer Probelösung zur Analyse, die durch Verdünnen einer Stammlösung bekannten Gehaltes erhalten wurde.

Die Stammlösung wurde durch Einwaage von $CaCO_3$, Lösen in HCl und Auffüllen hergestellt.

Bei der Titration wurde, wenn in der Tabelle 3 nicht gegenteilig angeführt, stets mit Setopaline und n/10 Maßlösung gearbeitet.

Tabelle 1. Gravimetrische Bestimmung nach *A*.

Nr.	mg Ca gegeben	mg Ca gefunden	Differenz in γ	Differenz in %
1	eingewogen $CaCO_3$ 3,394 mg = Ca 1,359 mg	1,347	—12	—0,89
2	eingewogen $CaCO_3$ 1,060 mg = Ca 0,425 mg	0,427	+ 2	+0,47
3	2,500	2,487	—13	—0,52
4	1,500	1,491	— 9	—0,06
5	1,000	1,007	+ 7	+0,07
6	0,500	0,498	— 2	—0,40
7	0,500	0,509	+ 9	+1,80
8	0,500	0,496	— 4	—0,80
9	0,250	0,251	+ 1	+0,40
10	0,176	0,172	— 4	—2,30
11	0,176	0,175	— 1	—0,57
12	0,176	0,182	+ 6	+3,40

Tabelle 2. Gravimetrische Bestimmung nach *B*.

Nr.	mg Ca gegeben	mg Ca gefunden	Differenz in γ	Differenz in %
1	0,833	0,837	+4	+0,48
2	0,500	0,504	+4	+0,80
3	0,346	0,351	+5	+1,44
4	0,100	0,106	+6	+6,00

Tabelle 3. Titrimetrische Bestimmung nach *C*.

Nr.	mg Ca gegeben	mg Ca gefunden	Differenz in γ	Differenz in %	gefällt nach
1	2,500	2,510	+10	+0,40	*A*
2	2,500	2,485	—15	—0,60	*B*
3	1,359	1,358	— 1	—0,07	*A* ohne Indikator
4	0,833	0,830	— 3	—0,36	*B*
5	0,500	0,505	+ 5	+1,00	*B*
6	0,346	0,349	+ 3	+0,87	*B*
7	0,333	0,340	+ 7	+2,12	*B*
8	0,333	0,337	+ 4	+1,24	*B*
9	0,176	0,184	+ 8	+4,54	*B* ohne Indikator
10	0,100	0,101	+ 1	+1,00	*B* n/100 $KMnO_4$
11	0,100	0,104	+ 4	+4,00	*B*
12	0,100	0,096	— 4	—4,00	*B* n/100 $KMnO_4$ 0,2 ml von Probe Nr. 5

Zusammenfassung.

Kalzium wird als Kalium- oder Ammonium-Doppelcyanoferrat(II) aus schwach alkalischer, 50%iger alkoholischer Lösung bei 50° C gefällt. Die Niederschläge können filtriert und nach Trocknen bei 105 bis 110° C gewogen oder nach Lösen in verdünnter Schwefelsäure mit Kaliumpermanganat titriert werden. Mg, Ba und Sr dürfen nicht anwesend sein, Na, K und Li stören nicht.

Die Bestimmungen sind rasch durchführbar und liefern gute Resultate. Beleganalysen für Ca-Mengen zwischen 0,1 bis 2,5 mg sind angeführt.

Literatur.

[1] *F. Feigl* und *F. Pavelka*, Mikrochem. **2**, 85 (1924).
[2] *T. Gaspar*, C. 1932. II. 1207.
[3] *H. Flaschka*, Österr. Chemiker-Ztg. **50**, 89 (1949).
[4] *E. Schwarz-Bergkampf*, Z. analyt. Chem. **69**, 336 (1926).
[5] *G. Gorbach*, Mikrochem. **31**, 109 (1944).
[6] *L. Vanino*, Handbuch der präparat. Chemie, II. Teil.
[7] *M. Fiorentino* und *P. Boni*, Biochem. Z. **307**, 245 (1941).
[8] *I. Mika*, Die exakten Methoden der Mikromaßanalyse. Stuttgart: F. Enke. 1939.
[9] *G. Gorbach*, Mikrochem. **31**, 317 (1944).

Aus dem Zentrallaboratorium der Wiener Gebietskrankenkasse.

Über die Hypobromitmethode zur Schnellbestimmung des Reststickstoffs.

Von

Th. Leipert.

(Eingelangt am 7. März 1949.)

Die Bestimmung des nicht an Eiweiß gebundenen Stickstoffs oder Reststickstoffs (RN) gehört zu den Routinemethoden jedes klinischen Laboratoriums. Sie erfordert allerdings in ihrer klassischen Durchführung eine Reihe zum Teil zeitraubender Operationen: *Abtrennung der Eiweißkörper, Veraschung des Filtrats* nach *Kjeldahl* und *Abdestillieren des gebildeten Ammoniaks* in eine Vorlage, in der es dann titriert werden kann. Wiederholt sind Versuche unternommen worden, diesen Arbeitsgang zu kürzen und durch Ausschaltung der Destillation auch apparativ zu vereinfachen.[1] Keine der vorgeschlagenen Abänderungen konnte sich jedoch recht durchsetzen, vor allem wohl deshalb, weil keine Methode auf die Veraschung verzichtete. So enteiweißt *F. Rappaport*[2] mit Phosphormolybdänsäure oder Natriumwolframat und Schwefelsäure, neutralisiert die Veraschungslösung und setzt das gebildete Ammoniak mit einer fluoridhaltigen Hypobromitlösung um, deren Überschuß jodometrisch bestimmt wird. Kürzlich machten nun *Rappaport* und *Eichhorn*[3] die Beobachtung, daß man die RN-Bestimmung mit gleicher Genauigkeit auch ohne Veraschung durchführen kann, wenn man das Hypobromitreagens direkt auf Blutfiltrate einwirken läßt.

Ein derart enges Parallelgehen von Kjeldahlwert und Hypobromitwert des Reststickstoffs war durchaus nicht vorauszusehen. Von den Teilfraktionen des RN reagieren *Harnstoff* und *Ammoniak* prompt und quantitativ mit Hypobromit:

$$\begin{array}{l} \mathrm{NH_2} \\ | \\ \mathrm{CO} + 3\ \mathrm{OBr^-} \longrightarrow \mathrm{N_2} + \mathrm{CO_2} + 3\ \mathrm{Br^-} + 2\ \mathrm{H_2O} \\ | \\ \mathrm{NH_2} \end{array}$$

$$2\ \mathrm{NH_3} + 3\ \mathrm{OBr^-} \longrightarrow \mathrm{N_2} + 3\ \mathrm{Br^-} + 3\ \mathrm{H_2O}.$$

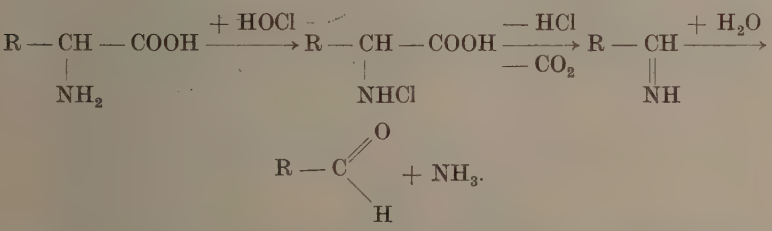
Besonders die Umsetzung von „Bromlauge" mit Harnstoff ist lange bekannt[4] und wurde von *Knop-Hüfner* zu einer quantitativen Bestimmung des Harnstoffs im Harn ausgebaut, bei der der entwickelte Stickstoff volumetrisch gemessen wurde.

Die Reaktion ist in 2 Minuten quantitativ, wie folgende Versuche zeigen. 3 ccm einer Ammoniumsulfatlösung bzw. Harnstofflösung mit je 60 γ Stickstoff werden mit 5 ccm Hypobromitreagens versetzt und der Hypobromitverbrauch zu den angegebenen Zeiten jodometrisch bestimmt, wie im methodischen Teil beschrieben.

Tabelle 1. Hypobromitverbrauch in ccm 0,01 n-Thiosulfat.

	Sofort	2 Minuten	5 Minuten	Theorie
Harnstoff	1,27	1,28	1,28	1,285
Ammoniak	1,27	1,28	1,28	1,285

Andere Aminoderivate geben bald mehr, bald weniger des erwarteten Stickstoffs, d. h. sie reagieren träge oder es wird wohl der Aminostickstoff rasch frei, doch der Restkörper reagiert weiter mit Hypobromit ohne übersichtlichen Reaktionsverlauf. Das gilt vor allem für eine andere wichtige Fraktion des RN, für *Aminosäuren*. *Langheld* stellt für den Umsatz von Aminosäuren mit Hypochlorit folgendes Schema auf:[5]



In der Tat bleiben dabei Aldehyde, also oxydable Restkörper übrig, die von *Langheld* bei verschiedenen Aminosäuren auch isoliert wurden.

Glykokoll gibt unter diesen Umständen Formaldehyd, der mit Ammoniak teilweise Hexamethylentetramin bildet, teilweise aber durch Hypohalogenit über Ameisensäure in CO_2 und H_2O zerfällt. Eine quantitative Bestimmung der Ameisensäure beruht auf dieser Umsetzung mit Hypobromit.[6]

Alanin liefert Acetaldehyd, der mit überschüssigem Hypochlorit in bekannter Reaktion Chloroform bilden müßte. Allerdings gelang es uns nicht, in analoger Reaktion aus Alanin und Hypojodit Jodoform zu gewinnen, ein Hinweis darauf, daß sich die von *Langheld* für das Hypochlorit geforderte Reaktionsweise durchaus nicht auf andere Hypohalogenite übertragen läßt.

Tyrosin als Typ einer cyklischen Aminosäure gibt durch Bromierung im Kern Anlaß zu einer weiteren Nebenreaktion mit beträchtlichem Schwund an Hypobromit.

Auch *Harnsäure* wird durch Hypobromit in molaren Verhältnissen relativ rasch oxydiert. Träge reagiert *Kreatinin*.

Die Tabelle 2 gibt einen Überblick über den Hypobromitverbrauch der erwähnten Stoffe in Abhängigkeit von der Zeit. Wie früher wurden 3 ccm Lösung des betreffenden Stoffes entsprechend 60 γ Stickstoff mit 5 ccm Hypobromitreagens umgesetzt.

Tabelle 2. Hypobromitverbrauch in ccm 0,01 n-Thiosulfat.

Substanz	Minuten				
	5	10	20	30	60
Glykokoll	2,52	2,55	2,57	—	—
Alanin	1,98	2,08	2,15		
Tyrosin	4,59	4,97	5,64	6,97	7,15
Harnsäure	0,52	—	0,63	—	—
Kreatinin	0,06	—	—	0,17	0,39

Berechnet man aus dem Maximalverbrauch an Hypobromit in Tabelle 2 die molaren Verhältnisse der Reaktion von Substrat mit Hypobromit, dann ergibt sich folgendes Bild:

Tabelle 3.

Substrat	Atome N	Hypobromit
1 Mol NH_3	1	1,5 Mole
1 „ Harnstoff	2	3,0 „
1 „ Glykokoll	1	3,0 „
1 „ Alanin	1	2,5 „
1 „ Tyrosin	1	8,3 „
1 „ Harnsäure	4	3,0 „
1 „ Kreatinin	3	1,36 „

Aminosäuren wie Glykokoll und Alanin haben daher einen genau erfaßbaren Hypobromitverbrauch und lassen sich exakt bestimmen, wenn man ihr molares Reaktionsverhältnis und die Reaktionszeit beachtet. Doch zeigen die theoretischen Erwägungen ebenso deutlich, daß *Kjeldahlwert und Hypobromitwert des Rest-N keineswegs gleich sein müssen*, da wechselnde Mengen von Hypobromit auf 1 Atom Stickstoff der verschiedenen Substanzen der RN-Fraktion entfallen. Wenn sich trotzdem in der Praxis beide Werte gleichen, so ist dies darin begründet, daß der Harnstoff nahezu immer den Hauptanteil des RN darstellt und eine sichere Berechnungsgrundlage bildet.

Das Verfahren von *Rappaport* und *Eichhorn* läßt sich weitgehend vereinfachen, wenn man mit Trichloressigsäurefiltraten arbeitet. Dann entfällt die Phosphormolybdänsäure als Eiweißfällungsmittel und der Zusatz gesättigter Natriumfluoridlösung erübrigt sich. Beide Reagenzien sind uns auch heute noch nicht leicht zugänglich. Trichloressigsäure ist überdies das konventionelle Eiweißfällungsmittel für RN-Bestimmungen und wird als völlig halogenierte Säure von Hypobromit in keiner Weise angegriffen. Als Hypobromitreagens dient uns ein Borat-Natronlauge-Puffer, dem unmittelbar vor dem Gebrauch eine Lösung von Brom in Kaliumbromid zugesetzt wird. Wir glauben auf die Pufferung durch Borsäure nicht verzichten zu dürfen, obwohl *Dán* und Mitarbeiter[7] ein billiges Calciumhypobromitreagens ohne puffernden Zusatz vorschlagen. Alte Erfahrungen,[6] die wir neuerdings bestätigen können, sprechen dafür, daß Hypobromitreagenzien aus Alkali und Halogen allein häufig inkonstante Werte liefern.

Methodik.

Reagenzien.

1. *Trichloressigsäure 20%ig.*
2. *Natronlauge 10%ig.*
3. *Boratpuffer*: 47 g Borsäure und 38 g Ätznatron werden mit 500 ccm dest. Wasser aufgekocht und nach dem Erkalten auf 1 Liter aufgefüllt.
4. *Bromlösung*: 20 g Kaliumbromid werden in 50 ccm Wasser gelöst, mit 8 g = 2,5 ccm Brom versetzt und nach dem Mischen mit dest. Wasser auf 1 Liter aufgefüllt.
5. *Hypobromitreagens*: Es wird unmittelbar vor jeder Reihenuntersuchung frisch bereitet durch Mischen von 9 Teilen Boratpuffer mit 1 Teil der Bromlösung.
6. *Kaliumjodid*, krist.
7. *Salzsäure*, aus konz. HCl durch Verdünnen mit Wasser 1 : 1.
8. *Thiosulfat* 0,01 n.
9. *Stärkeindikator.*

Ausführung. 1 ccm Serum wird mit 2 ccm Wasser verdünnt und durch 2 ccm 20%ige Trichloressigsäure enteiweißt. 1 ccm des Filtrats (= 0,2 ccm Serum) versetzt man in einer weiten Eprouvette wie zur Blutzuckerbestimmung nach *Hagedorn-Jensen* mit 0,5 ccm 10%iger Natronlauge, gibt 5 ccm Hypobromitlösung zu und bestimmt nach 2 Minuten den Hypobromitüberschuß durch Zugabe einiger Kristalle Kaliumjodid, Ansäuern mit 2 ccm Salzsäure 1 : 1 und Titration des freigewordenen Jods mit 0,01 n-Thiosulfat.

Mit jeder Versuchsreihe läuft ein *Leerwert.* 1 ccm einer Mischung aus 3 ccm Wasser + 2 ccm 20%ige Trichloressigsäure wird wie die Versuchslösung mit Hypobromit behandelt.

Berechnung. Der Berechnung wird die Reaktion des Hypobromits mit Harnstoff zugrunde gelegt. Danach verbraucht 1 Mol Harnstoff 3 Atome Brom als Hypobromit, 3 weitere Bromatome in Form von Bromid gehen ebenfalls verloren, da sie beim Ansäuern nicht mehr aus ihrer Bindung frei werden. Es entspricht daher 1 Mol Harnstoff = 2 N = 6 Br = 6 J = = 6000 ccm 1,0 n-Thiosulfat. Daraus folgt: 1 ccm 0,01 n-Thiosulfat = $= \frac{2 \times 14}{6 \times 100} = 0{,}04667$ mg N.

Für unsere Versuchsbedingungen (1 ccm Filtrat = 0,2 ccm Serum) gilt:

mg % RN = (Thiosulfat-Leerwert — Thiosulfatversuchswert) × 23,3.

Zur *Titerkontrolle* der 0,01 n-Thiosulfatlösung halten wir eine Ammoniumsulfatstammlösung vorrätig: 4,7165 g Ammoniumsulfat + 50 ccm 2 n-Schwefelsäure + dest. Wasser ad 1000. 1 ccm = 1 mg N. 1 ccm 10fach verdünnter Stammlösung = 100 γ N wird mit Hypobromit umgesetzt. Theoretischer Verbrauch 2,14 ccm 0,01 n-Thiosulfat. Abweichungen sind durch Faktoren zu korrigieren.

Die Methode hat sich in ausgedehnten Reihenuntersuchungen bereits über ein Jahr lang bestens bewährt. Die Übereinstimmung mit den Kjeldahlwerten ist gut und geringfügige Änderungen im Anstiegsbereich des RN von 40 mg% an werden zuverlässig angezeigt.

Tabelle 4.

Nr.	Kjeldahlmethode mg % RN	Hypobromitmethode mg % RN	Nr.	Kjeldahlmethode mg % RN	Hypobromitmethode mg % RN
1	23,8	22,3	5	48,6	46,4
2	24,4	24,4	6	52,6	51,3
3	32,2	31,1	7	84,8	82,9
4	36,0	35,8	8	111,0	107,7

Technik für kleine Serummengen. Die Empfindlichkeit jodometrischer Methoden gestattet ein Arbeiten mit ganz geringen Serummengen von 0,2 ccm oder mit Vollblut, das der Fingerbeere entnommen wird.

In ein Zentrifugengläschen werden 2 ccm dest. Wasser gebracht, in das man mit einer Kapillarpipette 0,2 ccm Serum oder Vollblut ausbläst. Durch Aufziehen und Ausblasen der Flüssigkeit wird die Pipette nachgespült. Nach Zugabe von 1 ccm 20%iger Trichloressigsäure wird zentrifugiert und 2 ccm des klaren Filtrats mit Hypobromit wie früher behandelt. Zur Bestimmung des Leerwertes dienen 2 ccm einer Mischung von 2,2 ccm dest. Wassers mit 1 ccm 20%iger Trichloressigsäure. Berechnung:

mg % RN = (Leerwert — Versuchswert) × 37,35.

Die Ergebnisse stehen den mit größeren Serummengen gewonnenen Zahlen in keiner Weise nach.

Tabelle 5. Angewandte Serummenge.

Nr.	1 ccm mg % RN	0,2 ccm mg % RN	Nr.	1 ccm mg % RN	0,2 ccm mg % RN
1	22,4	21,5	3	35,1	35,0
2	28,1	28,9	4	44,0	43,5

Wir prüften schließlich die Leistungsfähigkeit der Methode an drei Fällen. Die Patienten 1 und 2 waren Hypertoniefälle. Fall 3 wies einen schweren Leberschaden auf im Gefolge eines Neoplasmas mit Ausscheidung von Leuzin und Tyrosin im Harn. Wir hatten die beiden Aminosäuren

mikroskopisch im Harnsediment nachgewiesen und den chemischen Nachweis des Tyrosins durch den stark positiven Ausfall der *Millon*schen Reaktion im Harn erbracht. Es handelte sich also hier um ein Unvermögen der Leber, das Tyrosin in normaler Weise umzusetzen, so daß es nach Anreicherung im Blute in den Harn übertrat. Tyrosin aber ist jene Aminosäure, die nach unseren Beobachtungen ein Maximum an Hypobromit verbraucht, was im allmählichen Anstieg des Hypobromitwertes des Reststickstoffs über den Kjeldahlwert hinaus zum Ausdruck kommen mußte.

Tabelle 6.

	mg % Reststickstoff			
	Hypobromitwert			Kjeldahlwert
	2 Minuten	10 Minuten	20 Minuten	
1. Hypertonie	26,8	27,7	27,7	27,4
2. Hypertonie	31,3	33,5	33,3	31,5
3. Leberschaden	35,5	38,5	39,3	35,4

In den Fällen 1 und 2 erreicht der Hypobromitwert spätestens nach 10 Minuten sein Maximum, ohne weiter darüber hinauszusteigen. In extremen Fällen eines hohen Residualstickstoffs (Rest-N — Harnstoff-N), wie er bei Leberschäden durch Vermehrung der Aminosäuren auftritt, kann der Hypobromitwert des RN in der Tat je nach der Einwirkungsdauer des Reagens einige Milligrammprozent über den Kjeldahlwert zu liegen kommen. Die Brauchbarkeit der Methode wird durch dieses allmähliche Anziehen der Hypobromitwerte in keiner Weise beeinträchtigt, wenn man der Berechnung den Zweiminutenwert zugrunde legt, der mit dem Kjeldahlwert ausgezeichnet übereinstimmt.

Literatur.

[1] *K. Hinsberg* und *K. Lang*, Medizinische Chemie, S. 364. Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg. 1938.

[2] *F. Rappaport*, Mikrochemie des Blutes, S. 86. Wien-Leipzig: Emil Haim & Co. 1935.

[3] *F. Rappaport* und *F. Eichhorn*, J. Lab. clin. Med. **32**, 1034 (1947).

[4] *W. Knop* und *W. Wolf*, Chem. Zbl. **5**, 257 (1860).

[5] *K. Langheld*, Ber. dtsch. chem. Ges. **42**, 392, 2360 (1909).

[6] *J. H. van der Meulen*, Chem. Weekbl. **27**, 39 (1930).

[7] *A. Dán* (*Dickmann*), Wiener Arch. inn. Med. **29**, 276 (1948). — *A. Dán* und *M. Braun*, ebenda **29**, 460 (1948).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern.

Bestimmung des Scandiums mit Chinalizarin und über die Beziehungen des Scandiumpyrophosphates zum Scandiumphytat.

Von

G. Beck.

(Eingelangt am 9. März 1949.)

Es wurde in einer früheren Mitteilung erwähnt, daß das Scandium ebenso wie das Beryllium und das Magnesium und die Seltenen Erden mit Chinalizarin (1,2,5,8-Tetraoxyanthrachinon) einen blauen Farblack gibt.[1] Das Scandiumchinalizarinat unterscheidet sich nun dadurch von der entsprechenden Be- und Mg-Verbindung, daß es sich der wäßrigen Phase mit Äthylazetat oder Isoamylalkohol quantitativ entziehen läßt, während die beiden anderen vollständig in der wäßrigen Lösung verbleiben. Die Al-, Ti- und Thoriumverbindung färben die Ester- oder Alkoholschicht rotviolett bis lila und mit Zr entsteht eine rosa gefärbte wäßrige Phase und eine lila gefärbte alkoholische nebeneinander. Die Seltenen Erden geben nichts an die organische Schicht ab. Der Unterschied in der Farbe zwischen der Scandium-, Thorium- und Zirkonverbindung tritt am besten hervor, wenn man die Lösung gegen eine Tageslichtlampe betrachtet, wobei im Falle des Sc eine rein kornblumenblaue Farbe erscheint, bei Th und Zr eine violette. Die Reaktion ist für Scandium selektiv und die Nachweisgrenze beträgt 0,1 γ/ccm. Sehr deutlich kann man das Scandiumchinalizarinat von den andern Farblacken im Spektroskop unterscheiden. Die rein blaue Farbe rührt von einem schmalen scharfen Absorptionsstreifen im Rot her. Er liegt ungefähr an der Stelle der roten Lithiumlinie, etwas nach violett verschoben bei zirka 650 mμ. Er ist bei einer Konzentration von 1 γ/0,3 ccm noch sichtbar. Beryllium-, Magnesium-, Aluminium-, Yttrium-, Zirkon- und Thoriumchinalizarinat weisen nur mehr oder weniger diffuse Banden von 600 bis 500 mμ auf. Gestört wird die Reaktion nur durch Ferrisalze, die auch einen blauen, in Isoamylalkohol löslichen Farblack mit einem ähnlichen Absorptionsstreifen im Rot geben wie das Scandium. Die Reaktion tritt auch ein, wenn man Ferrisalze mit Ammoniak und Ammoniumkarbonat fällt und mit Chinalizarin in Isoamylalkohol ausschüttelt.

Von Ammoniumpolysulfid wird der Ferrichinalizarinkomplex nicht angegriffen. Wenn man die Suspension des Ferrihydroxydes in der ammoniakalischen Ammoniumkarbonatlösung mit Ammoniumpolysulfid versetzt, so wird das Eisen zur zweiwertigen Stufe reduziert, und nun tritt beim Ausschütteln mit Chinalizarin keine Blaufärbung mehr auf. Die Farblacke sind in Chloroform und Äther unlöslich. Die blaue Lösung des Scandiumchinalizarinates in Isoamylalkohol kann im Stufenphotometer unter Verwendung der Filter S 57 oder S 61 kolorimetrisch bestimmt werden, oder es kann kolorimetrisch titriert werden, wie es *Fischer* für das Beryllium vorgeschlagen hat.[2] Um den Nachweis des Sc nach dieser Methode zu prüfen, wurden je einige Milligramm Beryllium-, Thorium- und Yttriumnitrat, Zirkonoxychlorid, Aluminium- und Titansulfat in 5 ccm Wasser gelöst, mit einer Spur Scandiumsulfat versetzt, mit einigen Tropfen Ammoniumkarbonatlösung und Ammoniak alkalisch gemacht und mit 1 ccm einer Lösung von Chinalizarin in Isoamylalkohol geschüttelt. Der in der wäßrigen Schicht suspendierte Niederschlag der Hydroxyde und Karbonate absorbierte das Chinalizarin und die alkoholische Schicht entfärbte sich. Nun wurden kleine Mengen festes Chinalizarin portionenweise eingetragen und geschüttelt, bis die blaue Farbe der alkoholischen Schicht nicht mehr verschwand. Im Spektroskop war der schmale Absorptionsstreifen des Scandiumchinalizarinates bei 650 mμ deutlich zu erkennen.

Es wurde kürzlich eine Methode beschrieben, nach welcher Scandium als Phytat abgeschieden werden kann.[3] Es wurde nun, da das Sc eine ausgesprochene Affinität zu den Phosphationen besitzt, das Verhalten gegen weitere Phosphorsäuren untersucht.

Natriumpyrophosphat fällt aus Scandiumlösungen einen schwer löslichen Niederschlag von der Zusammensetzung $HScP_2O_7 \cdot 3\,H_2O$, der wohl als Sc-Salz einer Scandiumpyrophosphorsäure $[Sc(H_2O)_6]\,[P_4O_{14}H_2]$ aufzufassen ist. Analoge Verbindungen kennt man von den Seltenen Erden, wie $HYP_2O_7 \cdot 3\,H_2O$, $HCeP_2O_7 \cdot 3\,H_2O$, $HLaP_2O_7 \cdot 3\,H_2O$, $HErP_2O_7 \cdot 3\,H_2O$. Zur Analyse wurden 0,0915 g Substanz im Tiegel auf Rotglut erhitzt, wobei ein Gewichtsverlust von 0,0198 g eintrat. Der Rückstand wurde, da er in Säuren unlöslich war, mit NaOH im Platintiegel geschmolzen und nach dem Behandeln mit heißem Wasser vom $Sc(OH)_3$ abfiltriert, und im Filtrat nach Ansäuern mit Molybdat gefällt. Der Niederschlag wurde in Ammoniak gelöst, von den Spuren Scandiumhydroxyd abfiltriert und wieder mit Salpetersäure das Phosphormolybdat gefällt. Die Spuren $Sc(OH)_3$ wurden mit dem andern vereinigt, in Salzsäure gelöst und mit Ammoniak kochend gefällt, um Spuren Alkalihydroxyd zu entfernen. Der Niederschlag wurde im Porzellanfiltertiegel abfiltriert und zu Sc_2O_3 verglüht.

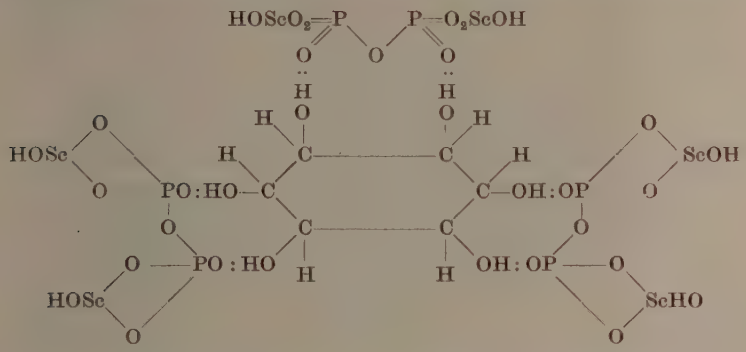
Ber.	Sc_2O_3	26,2%	gef.	26,2%
	P_2O_5	52,2%		52,2%
	H_2O	21,6%		20,4%

Scandiumpyrophosphat ist, wie aus der Zusammenstellung in Tabelle I ersichtlich, selbst in Mineralsäuren unlöslich und wird auch von heißer Schwefelsäure nur wenig angegriffen. Während die Schwermetalle in überschüssigem Alkalipyrophosphat spielend löslich sind, geht das Scandiumpyrophosphat nur bei einem größeren Überschuß an Alkalipyrophosphat und erst beim Erwärmen sehr langsam in Lösung. Essigsäure und Ammoniak fällen das Sc wieder aus. Es löst sich nur in Natriumfluorid und ammoniakalischem Ammoniumkarbonat und wird von Essigsäure und Ammoniak gefällt. Das Scandiumpyrophosphat ist demnach eines der schwerstlöslichen Pyrophosphate und es ist auffällig, daß es in dieser Beziehung die größte Ähnlichkeit mit dem Scandiumphytat zeigt. In der Literatur wird die Formel der Phytinsäure (Inosithexaphosphorsäure) häufig mit 5bindigem Phosphor dargestellt, was nach der heutigen Auffassung kaum richtig sein dürfte.[4] Der Phosphor tritt in den Komplexen 4-, oder in selteneren Fällen 6bindig auf, wie z. B. in den Hexafluorophosphaten $MePF_6$. Es ist nun interessant, daß *Starkenstein*[5] aus dem Verhalten des Phytins bei der Titration mit Uranylacetat und Silbernitrat und aus dem leichten Zerfall der freien Phytinsäure in Inosit und Phosphorsäure bei 110° schloß, daß hier ein Ester der Pyrophosphorsäure vorliege, was mit dem übereinstimmenden Verhalten des Scandiumpyrophosphats und des Scandiumphytats in bezug auf die Schwerlöslichkeit in Einklang stehen würde.

Tabelle 1. Löslichkeit der Pyrophosphate und Triphosphate.
Löslich = +; unlöslich = —; (+) = nur langsam löslich.
$NAc_3 = N(CH_2OONH_4)_3$; $Py = Na_4P_2O_7$.

	HCl	CH_3COOH	neutral	NH_4HCO_3	$NH_4HCO_3 + NH_3$	Tartrat	Oxalat	NAc_3	NaF	Py
					a) *Pyrophosphat*					
Sc . .	—	—	—	—	(+)	—	—	—	+	(+)
Al . .	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+
Y . . .	+	—	—	—	+	+	+	+		+
Th . .	—	—	—	—	—	+	—	+		+
Zr . .	—	—	—	—	+	+	+	—	+	+
Ti . .	(+)	—	—	+	+ mit H_2O_2		+	+	+	+
					b) *Triphosphate* $Me_5P_3O_{10}$					
Sc . .	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
Al . .	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+
Y . . .	+	—	—	—	+	+	+	+		+
Th . .	—	—	—	+	+	+	—	+		+
Zr . .	—	—	—	+	+	+	—	+	+	+
Ti . .	—	—	—		+ mit H_2O_2		—	+	+	+
Be . .	+	—	—	—	—	+	—		—	+

Man müßte in diesem Fall annehmen, daß die Pyrophosphorsäure mit je zwei Wasserstoffbrücken an den Inosit gebunden wäre, entsprechend der Formel



Das Scandiumphytat kann man als basisches Salz $C_6H_6(OH)_6[P_2O_7]_3 \cdot [Sc(H_2O)_5OH]$ auffassen oder es könnte die Möglichkeit bestehen, daß das Sc die sechs Brückenwasserstoffatome auch noch ersetzt und die Verbindung der Pyrophosphorsäure mit dem Inosit selbst herstellt, denn es hat ja auch eine ausgesprochene Affinität zu organischen Hydroxylgruppen. Die Formel würde dann $C_6H_6O_6[P_2O_7]_3[Sc(H_2O)_6]$ zu schreiben sein.

In der Tat wird aus einer Scandiumlösung, die Inosit enthält, mit Natronlauge kein $Sc(OH)_3$ ausgefällt, erst beim Kochen scheidet es sich langsam ab. Ammoniak dagegen fällt schon in der Kälte. Scandiumphytat ist auch stabil gegen Natronlauge, während sich die Schwermetallphytate darin auflösen.

Literatur.

[1] *G. Beck*, Mikrochim. Acta **2**, 9 (1937); *A. S. Komarowsky* und *J. M. Korenmann*, Z. analyt. Chem. **94**, 247 (1933).

[2] *H. Fischer*, Wiss. Veröff. Siemens-Konzern **5**, 99 (1926).

[3] *G. Beck*, Mikrochem. **34**, 62 (1948).

[4] Vgl. *P. Karrer*, Lehrbuch der organischen Chemie, 9. Aufl., Leipzig. 1943; *C. Neuberg*, Biochem. Z. **9**, 558 (1908).

[5] *E. Starkenstein*, Z. Biochem. **30**, 56 (1911).

Aus dem Forschungslaboratorium für Organische Chemie der Technischen Hochschule, Mexico, D. F.

Ein Verfahren zur Mikro-Schwefelbestimmung.

Von

J. Erdos.

(Eingelangt am 9. März 1949.)

Bekanntlich sind die sogenannten klassischen Verfahren, wie die Methode von *Carius* u. a., die zur Bestimmung des Schwefels in organischen Verbindungen dienen, ziemlich umständlich und zeitraubend. Das Verfahren von *W. Zimmermann*[1] bedeutet in dieser Hinsicht einen großen Fortschritt. Darnach wird der Schwefel mit metallischem Kalium reduziert und sodann jodometrisch bestimmt. Die Fehlerbreite der *Zimmermann*schen Methodik ist so gering, daß sich damit ohne weiteres auch Spurenbestimmungen ausführen lassen.

Seit dem letzten Kriegsjahr suchte ich im Verein mit meinen Assistenten *G. Carvajal*[2] und *R. Ramirez*[3] nach einer vereinfachten und schneller durchführbaren Methode zur Bestimmung des organischen Schwefels. Die Oxydation mit Kaliumpermanganat, Salpetersäure und Salzsäure ergab ein Verfahren, welches uns hinsichtlich Einfachheit und Zeitaufwand befriedigend erschien. Zweifellos erreicht seine Genauigkeit nicht die der *Zimmermann*schen Methodik, die uns erst kürzlich bekannt wurde; seiner Einfachheit wegen möchten wir unser Verfahren dennoch bekanntgeben.

Vorerst haben wir Sulfaderivate als Testsubstanzen für unser Verfahren angewendet.

Im Makromaßstab hat sich eine Einwaage von etwa 0,2 g gut bewährt. Die Arbeitsweise ist in großen Zügen folgende:

0,20 bis 0,25 g der Substanz werden mit 0,5 g Kaliumpermanganat und 5 ccm Salpetersäure eingedampft. Nach dem Erkalten werden 5 ccm Salpetersäure und 1 ccm Salzsäure dem Rückstand hinzugefügt und bis zur vollständigen Lösung erwärmt. Nach weiterer Zugabe von 0,25 g Kaliumpermanganat und 1 ccm Salzsäure verdampfen wir bis zur Trockne. Darnach wird neuerdings mit 0,25 g Kaliumpermanganat, 5 ccm Salpeter-

säure und 1 ccm Salzsäure oxydiert, die ganze Flüssigkeit verdampft und schließlich in Salzsäure aufgenommen. Das Sulfat wird mit Benzidinchlorhydrat gefällt und mit 0,1 n Natronlauge und Salzsäure titriert. Einige der erhaltenen Resultate sind aus der Tabelle 1 ersichtlich:

Tabelle 1.

	S ber. %	S gef. %	Differenz %
	(Mittel aus 5 Best.)		
Sulfathiazol	25,08	25,19	0,40
Sulfapyridin	12,87	12,98	0,85
Sulfadiazin	12,80	12,61	— 1,48
Sulfamethylthiazol	23,77	23,65	— 0,50
Phthalylsulfathiazol	15,87	15,80	— 0,44

Im nachstehenden beschreiben wir die zu einem Mikroverfahren umgestaltete Methode:

Darnach werden 0,5 bis 5 mg der Probe in hitzebeständigen Proberöhrchen (etwa 13 × 100 mm) abgewogen.

Benötigte Lösungen (durchwegs p. A.):

Kaliumpermanganat 5%, Salpetersäure konz., Salzsäure konz., Natronlauge 0,05 n, Salzsäure 0,05 n, Benzidinchlorhydrat 2%, Natriumchlorid gesättigt, Phenolrot als Indikator.

Um Herausspritzen zu vermeiden, wird unter ständigem Umschütteln mit einem Mikrobrenner erwärmt; außerdem schützen wir die Öffnung der Eprouvette durch Aufsetzen eines kleinen Glastrichters.

Die Substanz wird mit 0,2 ccm der Kaliumpermanganatlösung und 0,1 ccm Salpetersäure erwärmt und hierbei bis zur Trockne verdampft. Man läßt abkühlen, löst in 0,1 ccm Salzsäure und verdampft wie vorher beschrieben. Nach Zugabe von 0,1 ccm Salpetersäure wird bis zum Verschwinden der nitrosen Dämpfe erhitzt. Darnach werden 0,2 ccm Permanganatlösung hinzugesetzt, nahezu bis zur Trockne eingeengt und schließlich noch einmal mit 0,1 ccm Salzsäure abgeraucht. Nach Wiederholung der letzten vier Operationen wird noch einmal mit 0,1 ccm Salzsäure zur Trockne verdampft und der Rückstand mit 0,4 ccm Wasser gelöst (wenn nötig, unter Zusatz von einem Tropfen Salzsäure). Diese Lösung wird mit 0,4 ccm der Benzidinchlorhydratlösung versetzt. Die Fällung wird bei Zimmertemperatur vorgenommen, 1 bis 2 Minuten kräftig geschüttelt und 10 bis 15 Minuten bis zur Filtration stehengelassen. Der Niederschlag wird mit Hilfe eines Mikroglasfrittenfilters oder mit Hilfe von gehärtetem Filterpapier durch einen Mikro-*Buchner*-Trichter filtriert und das Fällungsgefäß zweimal mit 0,5 ccm der gesättigten Kochsalzlösung nachgewaschen. Das Filterchen wird in einem

Erlenmeyer mit 25 ccm Wasser und 2,0 ccm der 0,05 n-Natronlauge 2 Minuten lang gekocht und mit 0,05 n-Salzsäure titriert. Als Indikator wird Phenolrot verwendet, dessen Gelbfärbung den Umschlagspunkt anzeigt. 1 ccm 0,05 n-Natronlauge entspricht 0,8 mg Schwefel. Die mit einigen Sulfaderivaten erhaltenen Resultate sind in der Tabelle 2 angeführt:

Tabelle 2.

	S ber. %	S gef. % (Mittel aus 10 Best.)	Differenz %
Sulfathiazol	25,08	25,20	0,48
Sulfanilamid	18,62	18,74	0,68
Sulfamerzin	12,12	11,97	— 1,23
Sulfapyridin	12,87	12,79	— 0,62
Sulfamethylthiazol	23,77	23,94	0,72
Phthalylsulfathiazol	15,87	15,62	— 0,60
Succinylsulfathiazol	19,81	19,71	— 0,52
Succinylsulfanylamid	11,76	11,79	0,27

In der folgenden Tabelle 3 geben wir einige bisher unveröffentlichte Resultate mit anderen Verbindungen wieder, die mit Hilfe der angeführten Mikromethode erhalten wurden:

Tabelle 3.

Substanz	Einwaage mg	% S ber.	% S gef.	Differenz
Thiourazil	2,3	25,04	24,19	— 3,39
Thioharnstoff	1,7	42,12	41,95	— 0,40
Sulfanylsäure (H_2O)	3,6	16,77	16,69	— 0,48
Methylenblau (3 H_2O)	3,0	8,59	8,15	— 5,13
Thioglycolsäure (80%)	2,0	27,84	27,58	— 0,90
Thioglycolsaures Natrium	1,2	28,12	27,90	— 0,77
Thiaminchlorhydrat	0,70	9,51	9,46	— 0,53
Cystinchlorhydrat (H_2O)	0,90	18,25	18,22	— 0,16
Methionin	2,9	21,47	21,10	— 1,72

Zusammenfassung.

Es wird eine Mikromethode für die Bestimmung des Schwefels in organischen Verbindungen beschrieben. Die Einwaagen von 0,5 bis 5 mg werden mit Kaliumpermanganatlösung, Salpetersäure und Salzsäure zerstört, der oxydierte Schwefel mit Benzidinchlorhydratlösung maßanalytisch bestimmt.

Literatur.

[1] Mikrochem. **31**, 15 (1943); **33**, 122 (1947).
[2] Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biologicas **4**, 375 (1947).
[3] Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biologicas **5**, 109 (1948).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Wien und der II. Medizinischen Klinik der Universität Wien.

Die Bestimmung kleiner Antistinmengen in biologischem Material.

Von

M. Pantlitschko, H. Benger und **J. Schmid.**

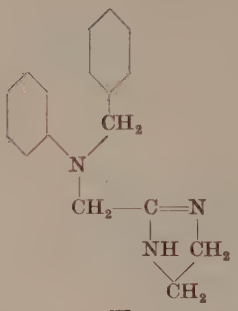
Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 24. März 1949.)

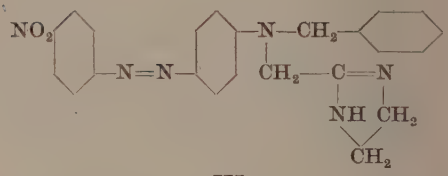
Obwohl die Verwendung zahlreicher Antihistaminsubstanzen noch immer im Zunehmen begriffen ist, weiß man über die Ausscheidung und die Ablagerung dieser Stoffe im Körper nur sehr wenig. Geeignete Bestimmungsmethoden sind bisher nur für Antergan, Benadryl und Pyribenzamin bekanntgeworden. Nach *Dubost*[1] gibt die Nitrosoverbindung des Antergans (N,N-Dimethyl-N′-phenyl-N′-benzyl-äthylendiamin) mit Resorcin eine intensive Grünfärbung, die sich durch Vergleich mit einer Standardlösung zur Bestimmung des Antergans verwenden läßt. Pyribenzamin (N,N-Dimethyl-N′-benzyl-N′-pyridyl-äthylendiamin) ist durch seine Reaktion mit Bromcyan und anschließende Messung der Fluoreszenz in Mengen bis zu 3 γ/ccm Plasma bestimmbar.[2] Auch für Benadryl (β-Dimethyl-amino-äthyl-benzhydryl-äther) existiert eine Bestimmungsmethode von *Gelvin* und Mitarbeiter.[3] Die steigende Verwendung von Antistin [2-(N-Phenyl-N-benzyl-amino-methyl-)-imidazolin] an der II. Medizinischen Universitätsklinik veranlaßte uns, auch für dieses Präparat eine Methode auszuarbeiten, die einerseits die quantitative Erfassung kleinster Mengen gestatten und andrerseits für klinische Untersuchungslaboratorien geeignet sein sollte.

Analog dem Dimethylanilin (I) kuppelt Antistin (II) leicht in neutraler oder schwach saurer Lösung mit p-Nitrophenyl-diazoniumchlorid zu einer braunen Verbindung, dem 2-[(4′-Nitro-benzol-azo-)-N-phenyl-N-benzyl-aminomethyl]-imidazolin (III), dessen Farbe auf Zusatz von Salzsäure in ein schönes Violett umschlägt.

I



II



III

Daß die Reaktion nach oben angegebenem Schema verläuft, konnten wir durch Isolierung und Analyse der Verbindung III feststellen. 1,48 g reinstes p-Nitranilin wurden in 40 ccm HCl 1 : 2 suspendiert und mit einer Lösung von 0,7 g $NaNO_2$ in 10 ccm H_2O unter Eiskühlung versetzt und so lange gerührt, bis die Diazotierung beendet war. Zu der salzsauren p-Nitrophenyldiazoniumchlorid-Lösung wurden 3,6 g Antistinmethylsulfonat unter Kühlung zugesetzt. Nach 5 Stunden wurde mit Na_2CO_3 neutralisiert und der abgeschiedene Farbstoff abfiltriert. Zur Reinigung wurde mehrmals aus Salzsäure — Na_2CO_3 umgefällt, aus Alkohol umkristallisiert. Es zeigte sich jedoch, daß noch immer geringe Verunreinigungen vorhanden waren, und es wurde daher die schwach alkalische Suspension mit Äther im Schacherl extrahiert und der Rückstand nach Verdampfung des Äthers im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet. Die Kristalle zeigten im *Kofler*-Apparat einen Schmelzpunkt von 136°.

Die Elementaranalyse ergab folgende Werte:*

Einwaage 3,036 mg	H_2O ..... 1,397 mg	CO_2 ..... 7,398 mg
	H gefunden .. 5,14%	C gefunden .. 66,48%
	H berechnet .. 5,58%	C berechnet . 66,49%
Einwaage 4,518 mg	gefunden 0,823 ccm N_2 bei 17°, 741 mm Hg.	
	N gefunden .. 20,49	
	N berechnet . 20,23	

Um nun diese Reaktion zur Bestimmung kleinster Antistinmengen geeignet zu machen, ermittelten wir zunächst in zahlreichen Vorversuchen die optimalen Bedingungen zur Durchführung. Zunächst prüften wir, ob das *Lambert-Beer*sche Gesetz erfüllt war. Bei diesen Versuchen konnten wir feststellen, daß die Farbintensität nach einer gewissen Zeit ein Maximum erreicht. Ebenso konnte eine Abhängigkeit der Farbintensität von der Salzsäurekonzentration nachgewiesen werden.

* Die Analyse verdanken wir Herrn Dr. *W. Schöniger* vom Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.

Abb. 1 zeigt die Abhängigkeit der erzielten Extinktionen (Filter S 53) von der Zeit nach der Reagenszugabe bis zum Zusatz der Salzsäure. Die Extinktion steigt anfangs stark an, um sich dann asymptotisch einem Grenzwert zu nähern. Bei kleinen Antistinkonzentrationen wird dieser Grenzwert erheblich schneller erreicht als bei hohen. Zur Bestimmung der kleinen, in biologischem Material vorliegenden Antistin-

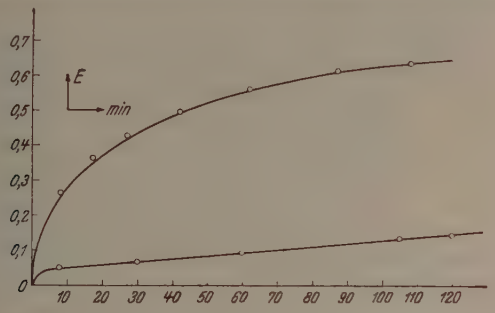


Abb. 1.

mengen erwies sich eine Wartezeit von 30 Minuten als vollkommen ausreichend. Es ergibt sich daher, daß die bei der Aufstellung der Eichkurve festgelegte Zeit bei allen Bestimmungen genau eingehalten werden muß.

Filter	*E*
S 43	0,114
S 47	0,174
S 50	0,222
S 53	0,301
S 57	0,108
S 61	0,027
S 72	0,018
S 75	0,027

Die Extinktionsmessungen wurden mit einem *Pulfrich*-Stufenphotometer durchgeführt. Die bei der Reaktion auftretende violettrote Farbe eignet sich wegen ihrer großen Absorptionskraft ausgezeichnet zur Photometrie. Wie obenstehende Tabelle zeigt, wurden die höchsten Extinktionskoeffizienten mit dem Filter S 53 erzielt. Die geringe Gelbfärbung des Reagens fällt bei diesem Filter praktisch nicht ins Gewicht und kann erforderlichenfalls durch Füllung der Kompensationsküvette mit einer entsprechenden Reagensverdünnung vollkommen eliminiert werden.

Die photometrische Eichung wurde mit reinstem Antistinmethylsulfonat vorgenommen.

Wie Abb. 2 zeigt, ist das *Lambert-Beer*sche Gesetz exakt erfüllt. Die Eichkurven verlaufen vollkommen geradlinig, der daraus errechnete photometrische Faktor beträgt für eine Zeit von 30 Minuten = 8,5, doch empfiehlt es sich, vor Anwendung der Methode eine eigene Eichkurve aufzunehmen, da geringfügige Unterschiede in den Reinheitsgraden der verwendeten Reagenzien das erzielte Ergebnis nicht unwesentlich beeinflussen können.

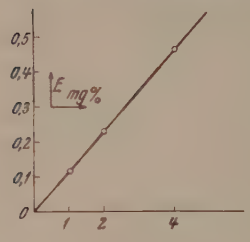


Abb. 2.

Zur Bestimmung kleiner Antistinmengen im Serum ist es notwendig, jene von den Eiweißkörpern zu trennen. Eine Enteiweißung nach den üblichen Vorschriften war nicht möglich, da der Niederschlag stets viel Antistin adsorbiert, das für die Bestimmung verloren ist. Dagegen führt Extraktion des Serums mit Äther nach Zusatz von Natriumkarbonat zum Ziel. Nach Abdampfen des Äthers und Aufnehmen des Rückstandes in Wasser kann die Bestimmung ohne Schwierigkeit auf die unten angeführte Weise erfolgen. Ersatz des Natriumkarbonats durch Natriumhydroxyd empfiehlt sich nicht, da sich in diesem Falle mit dem zur Extraktion verwendeten Äther schwer trennbare Emulsionen bilden.

Das Verfahren.

Benötigte Reagenzien.

1. p-Nitrophenyl-diazoniumchloridlösung:

a) 1%ige Lösung von p-Nitranilin in 1 n HCl,
b) 1%ige Lösung von Natriumnitrit,
c) 5%ige Lösung von Harnstoff.

Zum Gebrauch mischt man unter Kühlung 2 ccm Lösung a mit 2 ccm Lösung b und läßt anschließend 2 Minuten bei Zimmertemperatur stehen, dann setzt man 2 ccm Lösung c zu und füllt nach weiteren 10 Minuten auf 20 ccm auf. Das fertige Reagens ist bei Zimmertemperatur einige Stunden haltbar.

2. Salzsäure p. A. (d = 1,19).
3. Äther.
4. Natriumkarbonat, wasserfrei p. A.

Ausführung der Bestimmung.

4 ccm Serum oder hämolysiertes Vollblut werden in das Extraktionsgefäß eines Mikroextraktionsapparates nach *Barrenscheen* einpipettiert, 0,5 g festes Natriumkarbonat zugesetzt und 2 Stunden mit Äther extra-

hiert. Nach dieser Zeit überführt man den Äther aus dem Kölbchen in eine Eprouvette und dampft auf dem Wasserbad zur Trockene. Den Rückstand nimmt man in 2 ccm Wasser auf und versetzt mit 2 ccm p-Nitrophenyl-diazoniumchloridlösung. Man läßt 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen und säuert nach dieser Zeit mit 1 ccm konz. Salzsäure an. Eine leichte Trübung, wie man sie manchmal feststellt, kann durch Ausschütteln mit wenig Äther leicht entfernt werden. Die Ablesung erfolgt mit dem *Pulfrich*-Stufenphotometer unter Verwendung des Filters S 53 im allgemeinen bei einer Schichtdicke von 1 cm.

Abb. 3.
a ——— *b* —·—·—

Berechnung.

Direkte Ablesung des Antistingehaltes aus Eichkurve (s. Abb. 2) oder nach der Formel:

$$8{,}5 \cdot E = \text{mg-\% Antistin.}$$

Empfindlichkeit der Reaktion.

2,5 γ/ccm lassen sich bei Verwendung von 1-cm-Küvetten noch einwandfrei bestimmen. Geht man von größeren Serummengen aus und löst den Rückstand in weniger Wasser, so kann man eine nicht unwesentliche Konzentrierung erzielen. Bei gleichzeitiger Verwendung von Mikroküvetten kann man die Methode noch bis zu Mengen von 0,5 γ/ccm anwenden.

Spezifität der Reaktion.

Wir überzeugten uns durch Verwendung von normalen und pathologischen Seren, daß auf die oben angeführte Art keinerlei Stoffe extrahiert werden, die mit p-Nitrophenyldiazoniumchlorid eine wie immer geartete Färbung ergeben. Auch stark ikterische Sera ergaben keinerlei Farbänderung. Histidin, Histamin, Tyrosin und andere Eiweißabbauprodukte wurden im Reagensglas geprüft und ergaben ebenfalls keine Reaktion. Die Abb. 3, Kurve *a*, zeigt die Absorptionsbande des 2-[(4′-Nitrobenzolazo-)-N-phenyl-N-benzyl-aminomethyl]-imidazolinchlorhydrats im sichtbaren Bereich. Kurve *b* zeigt die Absorptionsbande des Farbstoffes aus dem Harn eines mit Antistin behandelten Patienten. Unserer Ansicht nach ist die Spezifität der Methode für klinische Zwecke hinreichend gewährleistet.

Es sind Untersuchungen über den Abbau und die Ausscheidung des Antistins an normalen und pathologischen Fällen im Gange, über deren Ergebnisse wir an anderer Stelle berichten werden.

Der Firma CIBA danken wir für die Überlassung der zu den Untersuchungen benötigten Antistinpräparate.

Zusammenfassung.

Das Antistin [2-(N-phenyl-N-benzyl-aminomethyl)-imidazolin] läßt sich als tertiäres aromatisches Amin mit p-Nitrophenyldiazoniumchlorid in neutraler bzw. schwach saurer Lösung zu einem in saurer Lösung violettroten Farbstoff kuppeln. Diese Reaktion wird dazu verwendet, um Antistin in biologischem Material qualitativ und quantitativ zu bestimmen.

Literatur.

[1] *Dubost*, Ann. pharm. franc. **1**, 145 (1943).

[2] *R. Mizzoni*, unveröff., Ref. *Ch. F. Huttrer*, Enzymologia (Den Haag) **12**, 288 (1948).

[3] *E. Ph. Gelvin* und *T. H. McGavak*, Bull. New York med. Coll. **9**, H. 1—4, 51 (1946).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.

Ein handlicher Wasserstoffentwicklungsapparat.

Von

W. Schöniger.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 27. April 1949.)

Für die mikroanalytische Bestimmung des Schwefels nach *Zimmermann* wird als inertes Gas Wasserstoff benötigt, welcher einen Druck von ungefähr 50 cm Wassersäule haben muß.

Als Wasserstoffquelle wird man bei Einzelbestimmungen, bei denen die Verwendung einer Stahlflasche nicht rentabel ist, wohl immer einen Wasserstoffentwicklungsapparat verwenden, der einen entsprechend reinen Wasserstoff liefert. An Stelle eines *Kipp*schen Apparates kann man mit Erfolg den im folgenden beschriebenen Entwickler benützen.

Das Prinzip dieser Wasserstoffentwicklung wurde zwar schon im Jahre 1924 von *V. Bayerle* und *M. Tamele*[1] in einer wenig bekannten Zeitschrift veröffentlicht, fand aber bisher selten praktisch Anwendung. Uns ist nur bekannt, daß *J. Heyrovsky*[2] auf diese Weise den Wasserstoff für polarometrische Messungen darstellt. Da der Apparat sehr handlich ist, die Gasentnahme unter verschiedenem Druck gestattet und der gewonnene Wasserstoff ziemlich rein ist, möchten wir auf ihn in dieser Zeitschrift insbesondere für seine Verwendung im mikrochemischen Laboratorium besonders aufmerksam machen. Das Prinzip beruht auf der elektrolytischen Zersetzung von verdünnter Salzsäure, wobei die nötige Zersetzungsspannung durch die Potentialdifferenz zwischen Zinkamalgam und Platin geliefert wird.

Der von uns modifizierte Entwickler besteht aus einem Erlenmeyer-Kolben von 1500 bis 2000 ccm Inhalt mit eingeschliffener Kappe. An diese ist einerseits ein Gasableitungsrohr angeschmolzen, anderseits ein

bis zum Boden des Kolbens reichendes, vertikales, unten geschlossenes Glasrohr eingefügt, in das unten ein Platindraht zur Herstellung einer leitenden Verbindung eingeschmolzen ist. Dieses Kontaktrohr hat ungefähr in der Mitte einen seitlichen, nach oben gewinkelten offenen Ansatz und ist fast bis zur Höhe des seitlichen Schenkels mit Quecksilber gefüllt. In diesen reicht 30 bis 40 mm tief ein Platindraht, an welchem ein platiniertes Platinblech angenietet ist. (Es lassen sich zu diesem Zweck alte Makroelektroden — auch Netzelektroden —, welche elektrolytisch platiniert werden, verwenden.) Der Boden des Kolbens ist 20 mm

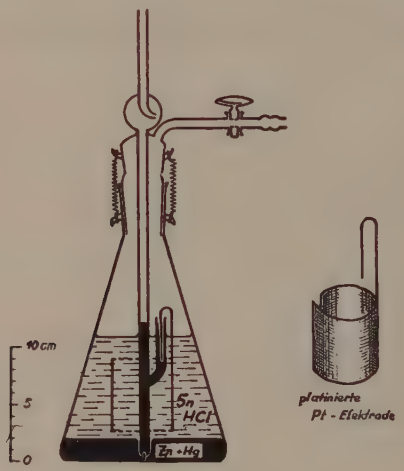


Abb. 1.

hoch mit Zinkamalgam bedeckt. Der so vorbereitete Apparat wird mit 5 n Salzsäure bis zur Hälfte gefüllt. Da die Apparatur unter Druck steht, wird der Schliff mit Federn gehalten.

Ist der Hahn des Ableitungsrohres verschlossen, so drückt der Wasserstoff das Quecksilber aus dem offenen Rohr zurück, bis der Kontakt unterbrochen wird. Die Wasserstoffentwicklung hört dann sofort auf. Bei darauffolgender Entnahme von Wasserstoff wird der Kontakt wieder hergestellt, die Gasentwicklung beginnt sofort in der ursprünglichen Stärke. Der auf diese Weise erhaltene Wasserstoff entspricht dem Reinheitsgrad eines durch Elektrolyse gewonnenen Wasserstoffs und muß zur Verwendung nur getrocknet werden.

Bei Verwendung eines 1500 ccm fassenden Entwicklungskolbens, welcher mit 800 ccm 5 n Salzsäure beschickt war, wurden bei einer

Elektrodenoberfläche von 80 cm² folgende Gasmengen im ununterbrochenen Betrieb entnommen:

Laufzeit: (Stunden)	ccm H_2 pro Minute
0	45
2	41
4	36
6	28
8	24
10	22
12	21
14	20

Läßt die Gasentwicklung merklich nach, so wird die verbrauchte Salzsäure abgehebert und der Apparat mit frischer 5 n Salzsäure beschickt.

Es wurde ferner versucht, an Stelle der Ganzplatinelektrode platinierte Kohle als Elektrodenmaterial zu verwenden. Dabei ergab sich folgendes:

Zwanzig 60 mm lange Bogenlampenstifte (Durchmesser 5 mm) wurden mittels eines am oberen Ende angelöteten Kupferdrahtes zu einem Kranz verbunden. Draht und Lötstellen wurden mit einem säurefesten Lack geschützt. Diese so hergestellte Kohleelektrode wurde sodann platiniert.

Bei einer Gesamtoberfläche von 180 cm² lieferte sie um 30% weniger Wasserstoff, als die zur Verfügung stehende 80 cm² große Platinelektrode.

Herstellung des Zinkamalgans:

Die zur Füllung des Apparates nötige Quecksilbermenge wird in einer Porzellanschale auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Bei 70° C lösen sich 7% Zink in Quecksilber. Man berechnet die nötige Zinkmenge und trägt diese in Form von Zinkspänen nach und nach in das Quecksilber ein. Es ist vorteilhaft, wenn man die Zinkspäne mit etwas verdünnter Salzsäure anätzt. Dies kann geschehen, wenn sich das Zink schon auf dem Quecksilber befindet. Ist alles Zink verbraucht, so läßt man etwas abkühlen und gießt das Zinkamalgam noch warm in den vorgewärmten Kolben. Nach dem Abkühlen erstarrt es. Man überschichtet mit etwas Quecksilber und setzt dann den Apparat wie beschrieben zusammen.

Literatur.

[1] *V. Bayerle* und *M. Tamele*, Chem. Listy pro Vědu a Průmysl **18**, 389 (1924).

[2] *J. Heyrovsky*, Polarographie, Wien: Verlag Springer 1941.

Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y.

Accuracy and Precision of Richards' Method for the Calibration of Weights.

By

A. A. Benedetti-Pichler.

(Received April 28, 1949.)

The purpose of this paper is to supply definite reasons for the recommendations made in a preceding paper dealing with the actual procedure in the calibration of weights.[1] The argument is essentially based on a repeated application of the elementary laws governing the propagation of errors.[2, 3, 4, 5]

It is assumed that a set of weights containing several, or more specifically, four, decades with the multiples 1–2–3–5 is being calibrated exactly as outlined in the preceding article.[1] The symbols N, A, R are used to represent the nominal, absolute, and relative weight of the permanent standard, a 100-gram piece in the assumed example; and n_i, a_i, and r_i shall indicate the corresponding quantities for any weight of the denomination i, which belongs to the set being calibrated.

As already outlined,[1] the computation of the absolute or "true" weight in air or of the correction c_i to absolute weight may be performed with either of the following equivalent equations,

$$a_i = r_i \frac{A}{R}, \tag{1}$$

$$c_i = a_i - n_i = r_i \frac{A}{R} - n_i, \tag{1a}$$

$$c_i = a_i - n_i = \overbrace{\frac{A}{R}(r_i - n_i R/N)}^{\text{Relative Difference } D_r} + \overbrace{(n_i A/N)}^{\text{Absolute Aliquot}} - n_i, \tag{2}$$

$$c_i = D_a + (n_i A/N) - n_i \tag{2a}$$

and the manner in which the errors of the determined quantities propagate into the calculated corrections is indicated by these equations.

The Accuracy of the Corrections.

If the permanent standard and all of the weights of the set have the same specific volume, the accuracy of the calibration will solely depend upon the exactness with which the absolute weight A of the permanent standard is known. The consequences of an error α in the calibration of the permanent standard are most simply derived with reference to equation (1 a). The error γ_i in the correction to absolute weight of piece i of the set is equal to the error in a_i minus the error in n_i. The latter is zero, since the nominal value is an exact number. Consequently, $\gamma_i = \alpha\, r_i/R$, and

$$\gamma_i = \alpha\, n_i/N, \tag{3}$$

since for any good set of weights r_i/R and n_i/N must be nearly identical as may be seen from Table I.

Equation (3) shows that the error in units of weight or mass decreases in direct proportion to the weight of the pieces as one proceeds from the permanent standard down to the smaller weights. If the "true" mass of the permanent standard of 100-g weight should be in error for 0,1 mg, the error of the 10-g piece will be only 0,01 mg, that of the 1-g piece only 0,001 mg, and for the fractional grams the error will be truly insignificant. Most important of all, no matter how large an error α is introduced with A, the internal consistency of calculated absolute weights is not at all affected by it, since the error is apportioned according to the nominal values of the weights.

If a high degree of accuracy is desired, it may be advisable to add a decade of auxiliary weights to the set so that a permanent standard may be used, which is ten or twenty times heavier then the largest piece of the set. It certainly would not favor accuracy if each decade were calibrated separately with the use of a different permanent standard for each decade.[6] On the other hand, any reasonably well adjusted weight may serve as permanent standard, and even allow obtaining the corrections in terms of the international kilogram, provided that it is sufficiently larger than the largest piece of the set. The carrying capacity of the balance does not impose any serious limitations, since it is entirely permissible to switch to the use of a balance of greater capacity for the calibration of the large weights.

Of course, it is always tacitly assumed that appropriate measures are taken to render the effects of variations of the buoyant effect[2] insignificant.

Table I. Accumulation of Errors in the Determination of the Relative Mass.

Nominal value of weight	The relative masses of the weights listed in the first column contain the tabulated multiples of the weighing errors e with the subscript:																$e_t\, r_i\, \Omega$
	,01	,02	,03	,05	,1	,2	,3	,5	1	2	3	5	10	20	30	50	100	
T. St. 10 mg																		0,00
10 mg	1																	0,10
20 mg	1	1																0,071
30 mg	1	1	1															0,058
50 mg	2	2	1	1														0,063
100 mg	4	4	2	1	1													0,062
200 mg	8	8	4	2	1	1												0,061
300 mg	12	12	6	3	2	1	1											0,061
500 mg	20	20	10	5	3	2	1	1										0,061
1 g	40	40	20	10	6	4	2	1	1									0,061
2 g	80	80	40	20	12	8	4	2	1	1								0,061
3 g	120	120	60	30	18	12	6	3	2	1	1							0,061
5 g	200	200	100	50	30	20	10	5	3	2	1	1						0,061
10 g	400	400	200	100	60	40	20	10	6	4	2	1	1					0,061
20 g	800	800	400	200	120	80	40	20	12	8	4	2	1	1				0,061
30 g	1200	1200	600	300	180	120	60	30	18	12	6	3	2	1	1			0,061
50 g	2000	2000	1000	500	300	200	100	50	30	20	10	5	3	2	1	1		0,061
100 g	4000	4000	2000	1000	600	400	200	100	60	40	20	10	6	4	2	1	1	0,061
Perm. Stand.																		

Table II. Submultiples of Weighing Errors Remaining in the Relative Difference.

Nominal value of weight	The relative differences of the weights given in the first column contain the listed submultiples of the weighing errors ε with the subscript:																	$\Delta_T\,\Omega$
	,01	,02	,03	,05	,1	,2	,3	,5	1	2	3	5	10	20	30	50	100	
Temp. Stand.																		
10 mg	,4	,4	,2	,1	,06	,04	,02	,01	,006	,004	,002	,001	,0006	,0004	,0002	,0001	,0001	0,62
10 mg	,6	,4	,2	,1	,06	,04	,02	,01	,006	,004	,002	,001	,0006	,0004	,0002	,0001	,0001	0,76
20 mg	,2	,2	,4	,2	,12	,08	,04	,02	,012	,008	,004	,002	,0012	,0008	,0004	,0002	,0002	0,56
30 mg	,2	,2	,4	,3	,18	,12	,06	,03	,018	,012	,006	,003	,0018	,0012	,0006	,0003	,0003	0,62
50 mg				,5	,3	,2	,1	,05	,03	,02	,01	,005	,003	,002	,001	,0005	,0005	0,63
100 mg					,4	,4	,2	,1	,06	,04	,02	,01	,006	,004	,002	,001	,001	0,62
200 mg					,2	,2	,4	,2	,12	,08	,04	,02	,012	,008	,004	,002	,002	0,56
300 mg					,2	,2	,4	,3	,18	,12	,06	,03	,018	,012	,006	,003	,003	0,62
500 mg								,5	,3	,2	,1	,05	,03	,02	,01	,005	,005	0,63
1 g									,4	,4	,2	,1	,06	,04	,02	,01	,01	0,62
2 g									,2	,2	,4	,2	,12	,08	,04	,02	,02	0,56
3 g									,2	,2	,4	,3	,18	,12	,06	,03	,03	0,62
5 g												,5	,3	,2	,1	,05	,05	0,63
10 g													,4	,4	,2	,1	,1	0,62
20 g													,2	,2	,4	,2	,2	0,57
30 g													,2	,2	,4	,3	,3	0,65
50 g																,5	,5	0,71
100 g Perm. Stand.																		

The Precision of the Calibration.

The precision of the corrections to absolute weight is determined by the accidental errors committed in the weighings needed for the determination of the relative weights. These errors will vary at random in sign and size, and they might seriously affect the internal consistency of the computed absolute weights, an effect which would be extremely objectionable when the weigths are to be used in chemical investigations requiring high precision.

On first sight it seems that the problem could be readily solved by applying the rules for the propagation of errors to equations (1) or (1a). This is not permissible, however, for these rules require that the uncertainties contained in r_i and R be independent. This requirement is not satisfied as will be demonstrated. Quite to the contrary, r_i and R do not only contain multiples of the same errors to make up the largest part of their uncertainty, but the multiples even keep the same or nearly the same proportions as the weights themselves.

Use of equation (2) permits an escape from this difficulty.

To begin with, the correction is given as the sum of absolute difference, absolute aliquot, and nominal value. The uncertainty of the last two items is zero, and the variance of the correction becomes equal to the variance of the absolute difference,

$$\gamma_i^2 = \Delta_a^2. \tag{3}$$

The absolute difference is defined as

$$D_a = \frac{A}{R} D_r \tag{4}$$

and the uncertainties in D_r and R are independent, since the identical weighing errors contained in R and r_i are practically eliminated by the formation of the relative difference. Consequently, one may claim that

$$(\Delta_a/D_a)^2 = (P/R)^2 + (\Delta_r/D_r)^2,$$

where P stands for the uncertainty of R, and Δ_r for the uncertainty in D_r. After multiplying through by D_a^2, one may set: $D_a/D_r = A/R =$ $=$ unity, without committing a significant error, since not more than 2 significant figures are required for the uncertainty of the correction to absolute weight. The identity of Δ_a and γ_i has been already stated in equation (3). Thus, it follows,

$$\gamma_i^2 = c_i^2 (P/R)^2 + \Delta_r^2. \tag{5}$$

The permissibility of the substitution of c_i for D_a may be seen from equation (2a) as well as from a comparison of columns 5 and 7 of Table III of the preceding paper of this series.

The task remains to satisfactorily express P/R and Δ_r as simple functions of the uncertainty of a determination of weight. A clear outline of the accumulation of errors in the determination of relative weights and of their cancellation in forming the relative differences was first presented by *Hurley*[7] whose procedure shall be followed for these two steps in the line of reasoning.

The Uncertainty of the Relative Weight of the Permanent Standard.

Consideration of the actual procedure in determining the relative weights of the various pieces of the set makes it obvious that an accidental error, to which one may assign the symbol e_i, is committed each time the mass of a weight of nominal value n_i is compared with the total mass of a combination of smaller weights. Table III of *Hurley*'s paper[7] demonstrates the accumulation of errors in the course of the calibration of a set with the multiples 1–1′–2–5 in the decades. Table I of this article has been prepared in a somewhat different manner to the same end. It refers to a set with the multiples 1–2–3–5 in all decades. The errors

Table III. Values of p and q

Multiples in each decade of the set of weights	Temporary standard and its use	*Richards'* method applied to set of several decades		*Thornton's* modification (q for lightest decade)	
		p	q	p	q
1, 2, 3, 5	duplicate of (1) used for weighing (1), (2), and (3)	0,61	0,63	0,62	0,67
	duplicate used for weighing (1) and (2)	0,76	0,63		
1, 2, 3, 4	duplicate of (1) used for weighing (1), (2), (3), (4), (10) and (20)	0,49	0,67	0,49	0,74
	duplicate used for weighing (1) and (2)	0,80	0,67		
1, 2, 2′, 5	duplicate of (1) used for weighing (1), (2), (2′), (5), (10), (20), and (20′)	0,50	0,69	0,50	0,75
	duplicate used for weighing (1), (2), and (2′)	0,67	0,69		

Continuation of table III.

Multiples in each decade of the set of weights	Temporary standard and its use	*Richards'* method applied to set of several decades		*Thornton's* modification (q for lightest decade)	
		p	q	p	q
1, 1′, 1″, 2′, and 5	duplicate of (1) used for weighing all weights up to (10″), inclusive	0,50	0,80	0,51	0,86
	duplicate used for weighing (1) only	1,12	0,80		
	(1) as temporary standard used for weighing (1′), (1″), (2), (5), (10), (10′), and (10″)	0,50	0,79		
1, 1′, 2, 5	duplicate of (1) used for weighing (1), (1′), (2), (5), (10), (10′), (50), etc.	0,50	0,71	0,51	0,78
	duplicate used only when it is needed; (1), (5), (10), (50), etc.	0,93	0,69		
Hurley's set, 1, 1′, 2, 5 with exception of gram-decade 1, 1′, 1″, 2, 5	(10 mg) for standard; rider used as an auxiliary 10-mg weight whenever necessary	0,51	0,71		

committed in weighing the 0,01-g, 0,02-g, etc. pieces are given the symbols $e_{.01}$, $e_{.02}$, etc. The table has the advantage of immediately showing that the accumulation of errors occurs in direct proportion with the increase of mass. The regularity with which figures recur in the direction of the diagonal permits ready discovery of mistakes.

An example may illustrate the use of Table I for the computation of the error in the relative mass of a weight. The fifth horizontal row gives the information on the 0,05-g piece, the nominal value of which is listed in the first column. Reading from the left to the right, one is informed that $r_{.05}$ is affected by the sum of the following weighing errors,

$$2\,e_{.01} + 2\,e_{.02} + e_{.03} + e_{.05},$$

When a calibration is carried out, all of these weighing errors will assume definite sign and magnitude. Obviously, it is impossible to determine

either sign or size of the errors in any particular instance, but their approximate total effect may be predicted by substituting for them an efficient estimate of the uncertainty of the method for the determination of weight, which is actually being used. Substituting the uncertainty Ω of the determination of weight for the errors e_i, one obtains the variance of the relative weight,

$$\varrho_{.05}{}^2 = (2^2 + 2^2 + 1^2 + 1^2)\,\Omega^2$$

and

$$P_{.05} = 3{,}16\,\Omega.$$

Division by the relative weight, for which the nominal value may be substituted, gives the relative uncertainty of the relative weight:

$$\varrho_{.05}/r_{.05} = 0{,}063\,\Omega.$$

The multiples of Ω contained in the relative uncertainties of the relative weights of the various pieces of the set are listed in the right-hand column of Table I. It may be seen that, but for the lightest decade, the relative uncertainties of the relative weights are practically identical for all the pieces of the set and the permanent standard,

$$P/R = \varrho_i/r_i = 0{,}061\,\Omega = 0{,}61\,\Omega/n_t = p\,\Omega/n_t, \qquad (6)$$

where $n_t = 10$ mg stands for the nominal value of the temporary standard.

Division by n_i instead of by r_i is permissible, since only two figures are given for the relative uncertainty and one may assume that the conditions are satisfied, which are later discussed in connection with equations (11) and (12). The resulting constancy of the relative uncertainty of the relative weigths is the necessary consequence of the fact that the weighing errors accumulate in direct proportion with increasing mass of the weights.

The Uncertainty of the Relative Difference.

Consideration of the manner in which the weighing errors e_i enter into the relative difference permits the derivation of a general expression for the uncertainty of the relative difference. Also in this instance *Hurley*[7] was the first to find the correct approach. He correctly lists the submultiples of the weighing errors remaining in the relative difference in his Table IV. In a similar manner, Table II of this paper has been calculated for the combination 1–2–3–5 in the decades.

The reasoning may be briefly repeated as follows. The relative mass R of the permanent standard contains multiples of all weighing errors e_i as may be seen from the bottom row of Table I. Equation (2) shows that, in computing the relative difference for any weight, one subtracts the aliquot $R\,n_i/N$ of the relative weight of the permanent standard from the relative weight r_i of the weight concerned. This implies that

the weighing errors e_i accumulated in the relative weight r_i are decreased by the aliquots of the same weighing errors e_i accumulated in R. At least some of the weighing errors must become completely eliminated in this process, since Table I shows that the errors accumulate in direct proportion to the increase of mass. The submultiples of those weighing errors e_i which remain in the relative difference are listed in Table II which is constructed in essentially the same manner as Table I. It may be seen that, for the most part, only very small fractions of the weighing errors remain to affect the relative difference.

Table IV. Corrections to Absolute Weight Obtained for a Set of Weights with the Multiples 1-2-3-5 in the Decades

Weighing by transposition: corrections c_i in milligrams				Denomination: grams	Direct determination of weight: corrections c_i in milligrams			
1st calibration	2nd calibration	Deviation Δ from mean	Mean		Mean	Deviation Δ from mean	3rd calibration	4th calibration
+,07	+,02	,025	+,045	50	+,010	,020	+,03	—,01
+,31	+,31	zero	+,310	30	+,275	,005	+,26	+,29
+,19	+,17	,010	+,180	20	+,150	zero	+,15	+,15
—,13	—,14	,005	—,135	10	—,190	,020	—,21	—,17
+,86	+,87	,005	+,865	5	+,915	,045	+,96	+,87
+,37	+,39	,010	+,380	3	+,385	,025	+,36	+,41
+,01	zero	,005	+,005	2	—,005	,005	zero	—,01
—,02	—,02	zero	—,020	1	—,040	zero	—,04	—,04
+,05	+,06	,005	+,055	,5	+,055	,015	+,07	+,04
+,07	+,06	,005	+,065	,3	+,065	,005	+,07	+,06
+,02	+,03	,005	+,025	,2	+,010	,010	+,02	zero
+,06	+,05	,005	+,055	,1	+,045	,005	+,05	+,04
—,04	—,04	zero	—,040	,05	—,045	,005	—,04	—,05
—,02	—,02	zero	—,020	,03	—,030	zero	—,03	—,03
zero	+,01	,005	+,005	,02	zero	,010	+,01	—,01
—,01	—,01	zero	—,010	,01	—,025	,015	—,01	—,04
$\Sigma\Delta^2 = ,001\ 025$					$\Sigma\Delta^2 = ,004\ 225$			
$s^2 = \Sigma\Delta^2/15 = ,000\ 068$					$s^2 = \Sigma\Delta^2/15 = ,000\ 282$			
$s = \pm ,0083$ mg					$s = \pm ,017$ mg			
$\gamma_i = \pm ,009$ mg					$\gamma_i = \pm ,018$ mg			

Taking for an example the information given for the 10-g piece, one finds that its relative difference will contain the following sum of weighing errors,

$$0{,}4\ e_{10} + 0{,}4\ e_{20} + 0{,}2\ e_{30} + 0{,}1\ e_{50} + 0{,}1\ e_{100}.$$

Again, summation may be performed after substituting the uncertainty Ω of a determination of weight for the unknown actual weighing errors e_t. This gives the uncertainty of the relative difference computed for the 10-g weight,

$$\Delta_r = (0{,}4^2 + 0{,}4^2 + 0{,}2^2 + 0{,}1^2 + 0{,}1^2)^{1/2}\,\Omega = 0{,}62\,\Omega.$$

The right-hand column of Table II lists the values of Δ_r/Ω for the uncertainties of the relative differences of the various pieces of the set. It may be seen that fifteen of these figures lie between 0,56 and 0,65. Somewhat higher values, 0,76 and 0,71, are listed only for the 10-mg weight and the 50-g weight, respectively. The average effect of the errors is most fairly estimated by taking the root mean square of the values listed for Δ_r/Ω in the right-hand column of the table. This mean value is found equal to 0,63, and it shall be given the symbol q. Thus, in very close approximation of actual conditions, the uncertainty of the relative difference may be generally given for any weight of the set by,

$$\Delta_r = 0{,}63\,\Omega = q\,\Omega. \tag{7}$$

Uncertainty of the Correction to Absolute Weight.

A simple expression for the uncertainty of the correction to absolute weight is now obtained by combining equations (5), (6), and (7):

$$\gamma_i^2 = (p\,\Omega/n_t)^2\,c_i^2 + q^2\,\Omega^2 = (p^2\,c_i^2 + q^2\,n_t^2)\,\Omega^2/n_t^2. \tag{8}$$

The standard deviation or, in general, uncertainty of the correction to absolute weight for any piece of the set is thus given by

$$\gamma_i = (p^2\,c_i^2 + q^2\,n_t^2)^{1/2}\,\Omega/n_t. \tag{9}$$

Since either item in the parenthesis of equation (9) may be omitted, if it is one ninth or less of the other item, this equation may be further simplified as follows,

$$\gamma_i = q\,\Omega = \Delta_r \qquad \text{if} \qquad c_i \leqq n_t\,q/3\,p = {}^1/_3\,n_t, \tag{10}$$

$$\gamma_i = c_i\,p\,\Omega/n_t = c_i\,P/R \qquad \text{if} \qquad c_i \geqq 3\,n_t\,q/p = 3\,n_t. \tag{10a}$$

Since $p/q \approx 1$, it follows that the uncertainty of the correction to absolute weight will be the same for all weights of a reasonably well adjusted set, for which one would not expect the corrections to attain one tenth of the permissible size, ${}^1/_3\,n_t$. Under these conditions, the uncertainty of the corrections will be only about six tenths of that of the method of determination of weight employed.

If, for some specific reason, a set of weights, in which the mass of individual pieces deviates markedly from the intended value should

have to be calibrated, then the uncertainty of the corrections may begin to increase in direct proportion with the correction itself as indicated by equation (10a). It is, however, possible to obtain a considerable reduction of the uncertainty for all but the lightest decade of the set by following the procedure of *Thornton*[6] who calibrates each decade separately. The unit of each decade is duplicated by a carefully adjusted and calibrated weight which serves for a temporary standard in the decade and for a permanent standard in the calibration of the preceding decade. The reason for the improvement of the precision of the corrections may be easily recognized. Equation (10a) shows that the uncertainty will decrease at the same rate as the nominal value of the temporary standard increases. Of course, no advantage is gained in the calibration of the lightest decade, but large corrections to absolute weight may be obtained with good precision, if the faulty weights belong to the higher decades.

A minor advantage of *Thornton*'s procedure arises from the use of carefully adjusted weights for temporary standards, but the numerical value of p remains approximately the same as when following the procedure of *Richards*, and the errors α in the "true" weights of the permanent standards have to be taken into consideration as outlined in the first section of this paper.

Effect of the Combination of Multiples in the Set.

The precision of the calibration of a well adjusted set of weights is essentially determined by the magnitude of q. When the calculation of Tables I and II is repeated for sets with various combinations of multiples in the decades and for different ways in which the weighings may be arranged, it is then possible to calculate the numerical values for p and q as they apply to these different conditions.

The results of such calculations are compiled in Table III, and it may be seen that the lowest and most favorable value of q is obtained for the calibration of a set with the combination 1–2–3–5 by the procedure of *Richards*. This means that such sets can be more precisely calibrated than sets with any other arrangement of multiples. The value of q is not affected by the frequency with which the temporary standard is used, but it increases slightly, if only one decade is calibrated as in the procedure of *Thornton*. The less important factor p, however, is mostly determined by the frequency with which the temporary standard is used in the determination of the relative weights; the combination of multiples in the decades has little effect on it.

Obviously, Table III will make it possible to apply equations (9), (10), and (10a) to a rather large variety of conditions.

The Adjustment of the Temporary Standard.

In deriving equation (5), the ratio A/R is set equal to unity, since the computation of more than two figures for the uncertainty γ, is hardly permissible and the ratio is usually equal to unity within the limits $\pm$ 0,05. This latter fact is due to the circumstance that one is intuitively inclined to comply with the two necessary requirements, namely, sufficiently high precision of weighing and satisfactory choice of temporary standard. Nevertheless, these two requisites deserve closer inspection, and to this end each factor shall be permitted to contribute one half of the total permissible deviation of the ratio from unity.

For the investigation of the effect of the weighing errors, it shall be assumed that the absolute weight of the temporary standard is equal to its nominal value: $a_t = n_t$. Under this condition, the weighing errors e, committed in the determination of the relative weights are the sole cause for the inequality of R and A. Obviously, R would have to be found practically identical with A, if R were determined without error as a simple multiple of $a_t = n_t$. Thus, by considering the effect of the weighing errors only, one comes to realize that the extent to which the ratio A/R may deviate from unity is determined by the relative uncertainty of R, namely, $P/R = p\,\Omega/n_t$. If the standard deviation is used for the measure of uncertainty, then there is only a 5 per cent chance for the actual occurrence of a deviation which is larger than $2\,P/R$. One arrives at the reasonable condition: $2\,p|\Omega|/n_t \leqq 0{,}025$, or

$$|\Omega| \leqq 0{,}0125\,n_t/p. \tag{11}$$

Even under the least favorable conditions, when the highest value $p = 1{,}12$ is taken, it should be easy to satisfy the requirement: $|\Omega| \leqq 0{,}011\,n_t$.

The condition for the permissible error in the adjustment of the temporary standard is found by assuming that no errors are committed in weighing. Under this condition, A/R would be found identical with a_t/n_t, since $n_t = r_t$, and both would be equal to unity, if $a_t = n_t$. If the absolute weight of the temporary standard deviates from the nominal value, the relative deviation of the ratio A/R will be equal to the relative error in absolute weight of the temporary standard: $|a_t - n_t|/n_t$. Since the ratio is practically equal to unity, this last term stands also for the deviation of the ratio from unity. If this deviation shall not exceed 0,025, one arrives at the condition:

$$|a_t - n_t| \leqq 0{,}025\,n_t. \tag{12}$$

As a rule, this requirement also will be easily satisfied, but the knowledge of its existence is interesting, because the absence of the weight of the temporary standard from equations (1) and (2) is liable to create the impression that any arbitrary value taken for the relative

weight of the temporary standard might do.[8, 9] As a fact, it would serve, if it were not for the impossibility of avoiding weighing errors in the actual process of calibration.

Conclusions and Verification.

According to recommendations in the preceding article, the relative weights are determined by the method of transposition, and correspondingly the variance of a determination of weight is given by[2]

$$\Omega^2 = n\gamma^2 + 0{,}5\,\omega^2, \tag{13}$$

where $\omega = \delta/s$ is the standard deviation of the weight increment. The variance $n\gamma^2$, derived from the use of the counterpoise, is in this instance zero, for the effect of all errors e_i is already considered in the computation of p and q.

Thus, when following the recommendations of the preceding article, the standard deviation of the corrections to absolute weight becomes

$$\gamma_i = 0{,}5^{1/2}\, q\,\omega = 0{,}45\,\omega$$

or somewhat less than one half of the standard deviation of a weight increment. If a somewhat more exact statement in the instance of a particular weight is desired, one may use the value given in Table II for Δ_r/Ω in place of the mean value q. Further improvement of the precision is finally obtained because of the necessary repetition of the calibration. By taking the arithmetical means of the corrections obtained in two calibrations, one reduces the standard deviation of the data in the final list of corrections to absolute weight to

$$\gamma_i = 0{,}45\,\omega/2^{1/2} = 0{,}31\,\omega$$

or slightly less than one third of the standard deviation of the weight increment.

The considerable practical advantage gained in this manner is readily recognized when it is recalled that the variances have to be added in order to get the variance of the correction to absolute weight of a combination of several weights on the pan of a balance. The variance γ_i^2 of the corrections is now one ninth of the variance ω^2 of the weight increment. This means that it takes nine weights on the pan of the balance in order to produce an uncertainty equal to that of the weight increment. When substituting $\omega/3$ for γ in equation (13), one obtains the variance of a determination of weight by transposition with the use of n pieces of the calibrated set of weights as follows,

$$\Omega^2 = 0{,}5\,\omega^2 + n\,\omega^2/9. \tag{14}$$

If Ω is set equal to ω, it follows that n is equal to 4,5. This means that it is possible to keep the standard deviation of the determination of

weight down to the standard deviation of the weight increment in spite of using four to five weights of the calibrated set. Even the use of all 16 weights of four decades would not increase the total uncertainty beyond 1,51 ω.

The correctness of the calculated precision of the corrections to absolute weight was tested by repeated calibration of sets of weights. In one experiment, a new set of class S weights with the multiples 1–2–3–5 in four decades was repeatedly calibrated on the analytical balance for which the precision of the weight increment has been listed in Table I of the first paper[2] of this series. Each time a different weight was used for temporary standard. In two calibrations, *Gauß'* method of transposition was used for the determination of the relative weights, and two other calibrations were performed according to *Herbo*[10] by direct determination of weight and correction for the arm ratio. Each pair of calibrations was completed within three days in the even weather of late spring so as to eliminate fluctuations of the buoyant effect as much as possible.

The results are summarized in Table IV. The means of the corrections were calculated by averaging the results of the first and second calibration on the one hand, and of the third and fourth calibration on the other. Thus, in each series of two calibrations, one obtains one deviation from the mean for each weight. Since all deviations belonging to one series may be considered as individuals of the same population, the squares of the deviations were averaged to give an estimate s of the standard deviation of the corrections. It may be seen that these estimates s agree satisfactorily with the standard deviations γ_i computed under the assumption that $\omega = \pm 0{,}020$ mg represents the standard deviation of a weight increment. The close agreement between the calculated values for γ_i and the observed estimates of standard deviation s is, of course, accidental. It is clearly noticeable that the precision decreases for the larger weights, and this is to be expected, since the uncertainty of the weight increment is, for the balance used, significantly larger with heavy loads.

Interesting is the difference between the two series of means obtained for the corrections c_i. Their uncertainty expressed as standard deviation is $\pm 0{,}006$ mg and $\pm 0{,}013$ mg, respectively, but when considering that the uncertainty should be doubled for the larger pieces because of the decrease of the precision of the balance, one finds it difficult to prove significance for any one of these differences between the means. But for two exceptions, however, weighing by transposition gave somewhat higher values for the corrections than direct determination of weight. It is felt that this general trend indicates the presence of definite errors in at least one of the two series of means, and two factors may be pointed

out which may account for the introduction of significant bias by the use of direct determination of weight.

First, the zero deflection was not separately determined with each weighing, as is tacitly assumed in the theoretical treatment. The same zero deflection was used to correct series of from three to nine weighings. The errors made in the observation of the zero deflection, thus became constant for the series concerned instead of varying at random from weighing to weighing. The remedy is apparently in plain view. The mirage dissolves on close inspection, for repetition of the observation of the zero deflection with each weighing still leaves the question open whether the experimenter is able to keep himself free from bias when repeatedly observing the essentially same deflection.

Secondly, one might speculate concerning the possible effects of the arm ratio. With small loads, it could easily deviate for $\pm$ 0,00005 from the unit without the experimenter becoming aware of it, since a determination of the arm ratio with the use of 1-g weights would be afflicted with a standard deviation of $\omega/n_i = \pm$ 0,00002 in the instance of the balance actually used. Accidental deviations of two and one half times this size have a reasonable chance to occur, and such deviations from the unit would be significant even in the calibration of decigram weights, if the corrections are listed with two or three decimals of the milligram.

A second experiment is suitable for the illustration of the difficulties arising partly from the use of a set containing weights of identical denomination and partly from lack of an efficient system for recording and computation. The set contained the multiples 1–2–2′–5–10–10′–20–50, but the fractional decades were changed to the 1–2–3–5 combination by exchange of the duplicates of the unit for a "three" prepared of aluminium wire of suitable thickness.

With the use of weighing by substitution the set was independently calibrated by two students. Comparison of the obtained corrections showed considerable discrepancies for a large number of the pieces, and the author repeated the calibration twice, once weighing by substitution and the second time weighing by transposition. Thus, altogether four corrections to absolute weight were obtained for each weight. It was necessary, however, to repeat all calculations several times in order to obtain satisfactory agreement between the four series of data. In fact, this statement applies only to the corrections for the fractional grams of the set. Because of the confounding effect of the presence of identical twins in the two decades of gram weights, no way could be found to unravel with absolute certainty the mistakes committed by the students in the calibration of the multiples of the grams. Nevertheless, four sets of reliable data for the fractional grams were obtained. The fact that three balances of slightly differing precision had been used was

considered offset by employing the more precise method of transposition in one of the calibrations, and means for the corrections were calculated by merging all four sets of data. From the 32 deviations from the means, an estimate of standard deviation equal to $\pm$ 0,020 mg was calculated, which agrees satisfactorily with the theoretical estimate of $\pm$ 0,018 mg for the standard deviation of the correction to absolute weight obtained through weighing by substitution. These data as well as the additional 18 corrections to absolute weight found by the author for the multiples of the grams give no indication of any trend which could arise from the method used for weighing. But for the difference in precision, substitution and transposition seem to give identical results.

Summary.

Proof is supplied for the appropriateness of the recommendations in a preceding article on the practical performance of the calibration of a set of weights. The following points should be considered when striving for a high degree of precision.

(1) *Richards'* method assures internal consistency of the absolute weights computed for the pieces of a set.

(2) When a well adjusted set of weights with the multiples 1–2–3–5 in all decades is calibrated, the uncertainty of the corrections to absolute weight contained in the final list of corrections will be slightly less than one third of the uncertainty of a weight increment determined with the same balance. This statement presumes that the weighings are performed by transposition and that the calibration is carried out twice.

(3) For well adjusted sets, the uncertainty of the corrections to absolute weight is directly proportional to the uncertainty of the method used for the determination of weight. The numerical values of the proportionality factor q, which depends upon the combination of multiples in the decades, are listed in Table III.

(4) The highest precision is attained in calibration when all decades contain the multiples 1–2–3–5.

(5) It is always assumed that (a) the corrections to absolute weight are less than one third of the nominal value of the temporary standard; (b) the uncertainty of the method used in the determination of weight is not more than one hundredth of the nominal value of the temporary standard; (c) the true weight of the temporary standard will not differ from its nominal value for more than one fortieth of the latter; and (d) proper precautions are taken to keep insignificant the effect of errors arising from the uplift in air and its fluctuations.

(6) Accuracy and precision suffer, if the calibration is limited to one decade. Crudely adjusted weights cannot be calibrated with a high degree of precision.

(7) When using a well adjusted and calibrated set of weights for weighing by transposition, it is possible to keep the uncertainty of the determination of weight down to the uncertainty of the weight increment in spite of using four to five weights for counterbalancing. Even when using all 16 weights of four decades, the total uncertainty would not increase for more than 50 per cent.

(8) The predictions concerning the attainable precision have been confirmed by experiments in which sets of weights were repeatedly calibrated. Some evidence has been found which seems to indicate that direct determination of weight and correction for the arm ratio introduce a discernible trend into the list of corrections. The determination of the arm ratio for small loads cannot be performed with the desirable precision.

Zusammenfassung.

Die Zweckmäßigkeit der in einem vorangehenden Artikel vorgeschlagenen Richtlinien für die Eichung von Gewichtsätzen nach dem Verfahren von *Richards* wird durch eine theoretische Untersuchung und durch praktische Versuche vor Augen geführt. Die folgenden Punkte verdienen besondere Beachtung, falls hohe Präzision erreicht werden soll:

1. Die nach *Richards* erhaltenen absoluten Gewichte geben die zahlenmäßigen Verhältnisse der wirklichen Gewichte der Stücke des Satzes richtig wieder.

2. Wenn ein gut adjustierter Satz mit den Vielfachen 1–2–3–5 in allen Dekaden nach dem Verfahren von *Richards* geeicht wird, so werden in der endgültigen Liste die Korrekturen zu absolutem Gewicht mit einer Unsicherheit (mittlerer Fehler, Durchschnittsfehler oder wahrscheinlicher Fehler) erhalten, die dreimal kleiner ist als die Unsicherheit, die der Bestimmung eines Gewichtsunterschiedes mit derselben Waage anhaftet. Es ist dabei vorausgesetzt, daß Doppelwägungen nach *Gauß* ausgeführt werden und daß die ganze Eichung einmal wiederholt wird.

3. Für gut adjustierte Gewichtssätze ist die Unsicherheit der Korrekturen zu absolutem Gewicht der Unsicherheit des Wägeverfahrens direkt proportional. Die Zahlenwerte des Proportionalitätsfaktors q, die von der Art der Stückelung der Dekaden abhängen, können aus Tabelle III für die verschiedenartigen Gewichtssätze entnommen werden.

4. Die höchste Präzision kann bei der Eichung nur mit Gewichtssätzen erreicht werden, die die Stückelung 1–2–3–5 in allen Dekaden beibehalten.

5. Es ist immer vorausgesetzt, daß a) die Korrekturen zu absolutem Gewicht nicht größer sind als ein Drittel des Nominalwertes des *temporary standard* (Duplikat des kleinsten Gewichtes des Satzes, das als Hilfsstandard dient); b) die dem Wägeverfahren anhaftende Unsicherheit nicht größer ist als ein Hundertstel des Nominalwertes des Hilfsgewichtes oder *temporary standard*; c) das wahre Gewicht des Hilfsstandards vom Nominalwert um nicht mehr als ein Vierzigstel abweicht; und schließlich d) die geeigneten Maßnahmen getroffen werden, um die Auswirkung der Fehler, die sich aus dem Auftrieb in Luft und seinen Schwankungen ergeben, genügend einzuschränken.

6. Richtigkeit der Korrekturen sowohl wie ihre Präzision leiden, wenn die Eichung auf eine einzige Dekade beschränkt wird. Grob adjustierte Gewichte können nicht mit hoher Präzision geeicht werden.

7. Wenn Doppelwägungen nach *Gauß* mit Hilfe der Stücke eines zweckmäßig geeichten Gewichtssatzes ausgeführt werden, so läßt sich die Unsicherheit der Gewichtsbestimmung auch dann auf jene der Bestimmung eines Gewichtsunterschiedes beschränken, wenn 4 bis 5 Stücke des geeichten Satzes zur Gewichtsausgleichung benötigt werden. Selbst wenn alle 16 Stücke des Gewichtssatzes zur Verwendung gelangen, steigert sich die Unsicherheit der Gewichtsbestimmung nur um 50% gegenüber dem angegebenen Betrag.

8. Die theoretisch vorgeschriebene Präzision der Eichwerte wurde auch in Versuchen beobachtet, in denen Gewichtssätze wiederholt geeicht wurden. Dabei wurde auch beobachtet, daß einfache Gewichtsbestimmung trotz Korrektur für das Hebelverhältnis Eichwerte ergibt, die von jenen gerade eben merkbar abzuweichen scheinen, die durch Doppelwägung erhalten wurden. Die Bestimmung des Hebelverhältnisses kann bei kleiner Belastung der Waage nicht mit hinreichender Präzision durchgeführt werden.

Literature.

[1] *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 153 (1949).
[2] *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **34**, 241 (1949).
[3] *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. 8, 373 (1936).
[4] *F. Kohlrausch*, Lehrbuch der praktischen Physik. Berlin und Leipzig: B. G. Teubner. 1927.
[5] *Ostwald-Luther-Drucker*, Physiko-chemische Messungen. Leipzig: Akad. Verl.-Ges. 1925.
[6] *W. M. Thornton, Jr.*, J. Chem. Educat. **14**, 270 (1937).
[7] *F. H. Hurley, Jr.*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **9**, 239 (1937).
[8] *T. W. Richards*, J. Amer. Chem. Soc. **22**, 144 (1900).
[9] *F. C. Eaton*, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 3261 (1932).
[10] *Cl. Herbo*, Analyt. Chim. Acta **1**, 254 (1947).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.

Ein Autoklav für kleine Flüssigkeitsmengen.

Von

W. Schöniger.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 23. Mai 1949.)

Bei organisch-präparativen Arbeiten, die unter Druck und bei Temperaturen über dem Siedepunkt des Reaktionsgemisches durchgeführt werden müssen, stehen meistens nur Autoklaven mit so großem Fassungsraum zur Verfügung, daß sie für Mengen unter 50 ccm Flüssigkeit nicht verwendbar sind. Für kleine Substanz- und Flüssigkeitsmengen wird am häufigsten ein verschmolzenes, starkwandiges Glasrohr, ein „Bombenrohr" verwendet. Während diese Methode bei analytischen Arbeiten, z. B. für die Bestimmung der Halogene nach *Carius* ausgezeichnet verwendbar ist, ist sie für präparatives Arbeiten weniger geeignet. Um nämlich das Reaktionsgemisch nach beendeter Umsetzung der Weiterverarbeitung möglichst quantitativ zuzuführen, müssen zum vollständigen Ausspülen des langen engen Rohres zu große Mengen Lösungsmittel verwendet werden. Dabei wird aber das zu verarbeitende Volumen meistens so groß, daß man auf die Vorteile, welche das Arbeiten mit geringen Substanzmengen bietet, verzichten muß.

Daher ergab sich bei unseren Versuchen zur Darstellung organischer Präparate unter Verwendung von wenigen Gramm Substanz die Notwendigkeit, einen Autoklaven zu bauen, der für 5 bis 30 ccm Flüssigkeit brauchbar ist.

Als Heizmantel dient ein Aluminiumblock. Es ist dies ein zylindrischer Gußkörper von 95 mm Gesamtlänge und 77 mm Durchmesser. Am oberen Ende ist er in einer Länge von 15 mm auf einen Durchmesser von 107 mm ringförmig erweitert. In diese sind sechs Bohrungen von 6 mm Durchmesser angebracht, die zur Aufnahme von gehärteten Schrauben dienen, mit welchen der Deckel angezogen wird. Diese Schrauben sind durch in den Aluminiumblock eingeschraubte Stifte

(St) vor dem Herausfallen geschützt. Der Aluminiumblock ist mit einer 65 mm tiefen Bohrung von 35 mm Durchmesser versehen, welche oben in einer Höhe von 4 mm auf 43 mm Durchmesser erweitert ist. 20 mm von unten gemessen ist eine schräg abwärts führende Bohrung angebracht, die zur Aufnahme des Thermometers dient und 15 mm unter der Mitte der Ausbohrung des Blockes endigt. In der oberen Fläche des Heizmantels ist eine 4 mm breite, 2 mm tiefe ringförmige Nute (N), in welche eine entsprechende Leiste des Deckels paßt, als Dichtungsring angebracht. Der Block ist so dimensioniert, daß er auf das Universal-Heizstativ von *G. Gorbach*[1] aufgesetzt werden kann. Selbstverständlich kann auch jede andere elektrische Heizplatte verwendet werden. Die Temperatureinstellung erfolgt in bekannter Weise durch Vorschalten eines Schiebewiderstandes, den man sich ein für allemal für verschiedene Temperaturen einstellt. An dieser Stelle sei auf die schon von verschiedenen Seiten erwähnten Vorteile hingewiesen, welche das Arbeiten mit niedergespanntem Strom im Laboratorium bietet.

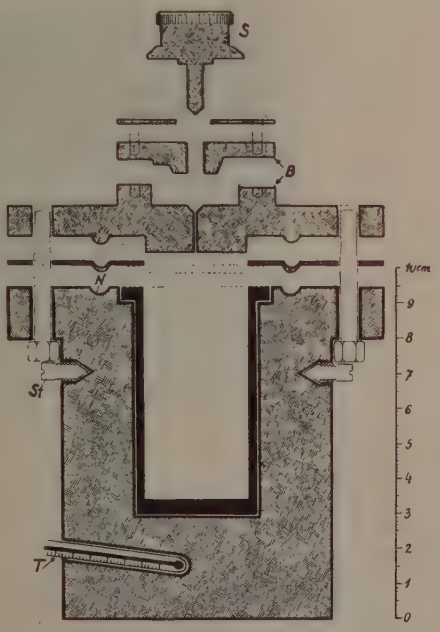


Abb. 1.

Der Stahleinsatz ist innen und außen verchromt. Er paßt gleitend in die Bohrung des Heizmantels und hat mit einem Innendurchmesser von 30 mm und einer Tiefe von 60 mm 42 ccm Inhalt. Er ist oben ringförmig erweitert. In diesen Stahleinsatz können fallweise kleine Gefäße gestellt werden.

Der Deckel ist eine 9 mm starke, runde Stahlplatte von 107 mm Durchmesser, welche ebenfalls sechs Bohrungen hat und verchromt ist. In der Mitte hat der Deckel unten einen 4 mm hohen Ansatz. Dieser hat einen Durchmesser von 30 mm und paßt in den Stahleinsatz. Eine Bohrung von 0,9 mm Durchmesser, die oben konisch erweitert ist, dient zum Ablassen eines eventuellen Überdruckes nach beendeter Reaktion.

Der aus der Zeichnung ersichtliche obere Aufsatz des Deckels dient zur Führung einer Schraube (S), deren Ansatz in die konische Erweiterung

der zentralen Deckelbohrung eingeschliffen wurde. Eine seitliche Bohrung (B) von 4 mm Durchmesser ermöglicht das Entweichen des Dampfes.

Die Dichtung wird durch Dazwischenlegen einer entsprechend durchbrochenen Bleiplatte gewährleistet.

Von der Anbringung einer Vorrichtung zur Druckmessung wurde aus zwei Gründen abgesehen. Erstens hätte dies die Herstellungskosten

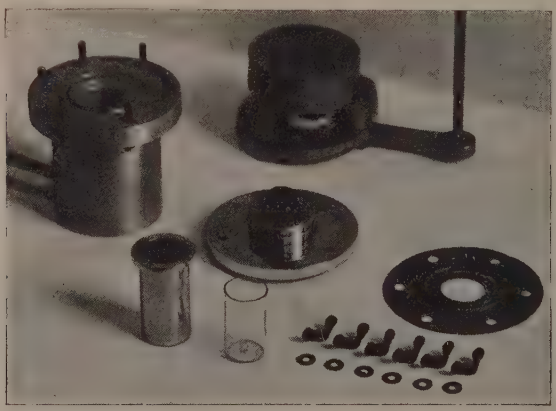


Abb. 2.

wesentlich verteuert und zweitens ist bei den meisten Reaktionen nur eine bestimmte Temperatur einzuhalten, da sich der Druck ja von selbst einstellt.

Um das Reaktionsgemisch während der Umsetzung durchzumischen, werden Heizplatte und Autoklav auf einer gewöhnlichen Laboratoriumsschüttelmaschine befestigt.

Nach beendeter Reaktion kann der Aluminiumblock rasch durch Aufstellen auf einen Steinfußboden oder durch Eintauchen in kaltes Wasser gekühlt werden. Nach dem Öffnen wird der Stahleinsatz herausgenommen und das Reaktionsgemisch der Weiterverarbeitung zugeführt. Da der Einsatz genügend weit ist, kann er leicht mit geringen Mengen Lösungsmittel ausgespült werden, so daß man in der einmal gewählten Dimension weiterarbeiten kann.

Der Autoklav wurde mit Wasser gefüllt bei einer Temperatur von 310° C (entspricht einem Druck von 100 Atm.) auf seine Festigkeit geprüft. Er wurde vom Institutsmechaniker *K. Doppelhofer* angefertigt.

Literatur.

[1] *G. Gorbach*, Mikrochemie **31**, 116 (1943).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Graz.

Die kritische Mischungstemperatur zur Kennzeichnung und Bestimmung kleinster Flüssigkeitsmengen.

(II. Mitteilung.)

Von

R. Fischer und E. Neupauer.

Mit 14 Abbildungen.

(Eingelangt am 31. Mai 1949.)

Über die Bestimmung der Mischungstemperatur (MT_k) auf dem Mikroschmelzpunktapparat (*Kofler*[1]) wurde in einer vorläufigen Mitteilung von *Fischer* und *Karasek*[2] berichtet. In folgender Arbeit wurde das Verfahren ausgebaut und zur Analyse von Flüssigkeitsgemischen und zur Identifizierung und Reinheitsprüfung verwendet; die mit Mengen um 1 mg arbeitende Methode bleibt dieselbe wie in der oben erwähnten Mitteilung. Die mit den beiden bei Zimmertemperatur unmischbaren Flüssigkeiten gefüllte, zugeschmolzene Kapillare wird in einem geschlitzten Metallobjektträger auf dem Mikroschmelzpunktapparat, der mit einem Verschieber versehen ist, erhitzt, wobei bei einer bestimmten Temperatur der Meniskus verschwindet und beim Abkühlen wieder erscheint. Da das Wiedererscheinen des Meniskus besser zu beobachten ist als das Verschwinden, wird jenes bei der Bestimmung gewertet, so daß man mit dem gleichen Recht auch von einer „kritischen Entmischungstemperatur" sprechen kann. Das Mikroverfahren besitzt, abgesehen von den geringen benötigten Mengen und der Geschwindigkeit der Analyse vor den schon früher verwendeten Makroverfahren folgende Vorteile:

1. Das Verschwinden bzw. Wiederauftreten des Meniskus ist mit großer Genauigkeit festzustellen, so daß sich sogar der Mikroschmelzpunktapparat zuweilen als zu wenig empfindlich erweist, was aber für die Praxis keine Rolle spielt.

2. Das Arbeiten in der zugeschmolzenen Kapillare ermöglicht das Erhitzen auf höhere Temperatur (auch über den Siedepunkt der betref-

fenden Verbindung hinaus), als wenn wie bisher im Makroverfahren nur mit lose verschlossenen Röhren gearbeitet wird. (*Crismer*[3] erwähnt als Einziger die Verwendung zugeschmolzener Röhren.)

3. Eine Abmessung oder Wägung der beiden Komponenten, wie sie beim Makroverfahren üblich ist, erfolgt nicht, was eine Vereinfachung darstellt, denn nur in einzelnen Fällen ist die MT_k abhängig von dem verwendeten Flüssigkeitsvolumen.

4. Da die Mischung der Komponenten nur in nächster Nähe des Meniskus erfolgt (*Fischer* und *Karasek*[2]), wird beim Mikroverfahren auch immer *die* Temperatur erhalten, die dem Maximum oder richtiger der oberen MT_k bei bestehender Mischungslücke entspricht (siehe das altbekannte System Phenol-Wasser mit einem Maximum bei 36%igem Phenol und 66°). Es stellt sich in der Kapillare, die ja während der Bestimmung nicht geschüttelt wird, regelmäßig die Zusammensetzung des Maximums ein. Volumsabhängige Systeme, die dann auftreten, wenn eine Komponente gegenüber der anderen relativ leicht in der Testsubstanz löslich ist, können mit der Mikromethode nicht untersucht werden, haben aber auch bei der Makromethode beschränkte Bedeutung. Dieses Phänomen beobachtet man bei wäßrigen Lösungen organischer Stoffe, z. B. Aceton oder Äthanol, wenn die in Wasser gelöste Substanz der Probe eine weit größere Löslichkeit in der zugefügten Testsubstanz besitzt. Dadurch ändert sich die Zusammensetzung der Testsubstanz, der Meniskus wandert und das Volumen der wäßrigen Phase verkleinert sich zusehends.

Nochmals sei (siehe *Clark*[4] und *Fischer* und *Karasek*[2]) auf die Möglichkeit hingewiesen, daß vor Erreichen der MT_k der Brechungsindex der untersuchten Flüssigkeit mit dem der Testsubstanz identisch werden kann, d. h. daß der Meniskus verschwindet. Handelt es sich um eine n_D-Gleichheit, kehrt der Meniskus beim Erhitzen wieder. Handelt es sich jedoch um die MT_k, dann erscheint er nicht mehr.

Hinsichtlich der Literatur seien gegenüber der vorläufigen Mitteilung noch einige ergänzende Angaben gemacht, die sich auf die makroskopische Bestimmung der MT_k beziehen. Außer *Chavanne* und *Simon*[5] untersuchte *Charpentier*[6] Benzine mittels Anilin auf ihre Brauchbarkeit. *Jones*[7] und *Jones* und *Amstell*[8] prüften Toluol, Essigsäure und das System Benzol-Cyclohexan. *Sidgwick*[9] untersuchte stellungsisomere Benzolderivate, um den sogenannten Orthoeffekt (Ringbildung) auch an der Löslichkeit zu überprüfen. *Rosset*[10] bestimmt aromatische Kohlenwasserstoffe und den Kampferspiritus. *Louise*[11] untersuchte ätherische Öle, *Reiberger*[12] Phenole und Kresole.

Wir stellten uns hier die Aufgabe, 1. einen Beitrag zur Identifizierung und Reinheitsprüfung von Flüssigkeiten zu leisten. Mit Rücksicht auf die Schwierigkeiten, sich heute eine größere Anzahl organischer Flüssigkeiten zu beschaffen, konnte jedoch diese Sparte in geringerem Maße

ausgebaut werden und legten wir das Hauptgewicht auf den zweiten Punkt, die quantitative Untersuchung binärer Systeme, unter besonderer Berücksichtigung solcher, die für die Praxis von Bedeutung sein könnten. In beiden Fällen ist die Frage nach einer brauchbaren Testsubstanz von Bedeutung, wobei eine solche für Punkt 1 möglichst viele Substanzen umfassen, ferner unmischbar mit der Probe bei Zimmertemperatur, jedoch mischbar mit der Probe bei einer praktisch erreichbaren Temperatur sein soll. Weiters muß sie flüssig sein oder zumindestens leicht schmelzbar, um das Einfüllen in die Kapillare zu ermöglichen. Sie muß haltbar und leicht rein darstellbar sein; natürlich darf sie mit den Proben keine Reaktion geben.

Was die Auffindung neuer Testsubstanzen betrifft, so haben *Rothmund*[13] und *Ostromysslensky*[14] Anhaltspunkte für den Zusammenhang zwischen Löslichkeit und Konstitution angegeben. Es scheint, daß sich auch bei Berücksichtigung der Dielektrizitätskonstante und des Dipolmoments eine ähnliche Reihung der Flüssigkeiten ergibt. Bezugnehmend auf die Arbeit von *Fischer* und *Karasek*[2] wurden einmal mit den dort erwähnten Testsubstanzen wie Paraffinöl und Glykol noch weitere Flüssigkeiten geprüft. Außerdem wurden noch folgende Testsubstanzen für die qualitative Prüfung herangezogen:

Anilin:	für aliphatische Kohlenwasserstoffe,
Trikresylphosphat:	für aliphatische Kohlenwasserstoffe und Glykole,
Methanol:	für Naphthene und aliphatische Kohlenwasserstoffe,
Ameisensäure:	für Halogenderivate niedriger aliphatischer Kohlenwasserstoffe,
Glycerin:	für Aldehyde und Ketone,
Äthylencyanid (empfohlen von *Timmermanns*[15]):	für Homologe des Benzols und deren Halogenderivate,
Phenol:	für wäßrige Lösungen anorganischer Stoffe,
n-Butylalkohol:	für wäßrige Lösungen anorganischer Stoffe.

Nach Stoffklassen der Proben geordnet:

a) aliphatische Kohlenwasserstoffe mit *Anilin*, *Benzylalkohol*, *Trikresylphosphat*;

b) Halogenderivate niederer aliphatischer Kohlenwasserstoffe mit *Ameisensäure*;

c) Naphthene mit *Methanol*, *Anilin*;

d) aliphatische Alkohole: niedere mit *Paraffinöl*, mittlere mit *Wasser*;

e) aliphatische Aldehyde und Ketone mit *Glycerin*;

f) Fettsäuren mit *Paraffinöl*;

g) Benzol und Homologe mit *Glykol* oder *Äthylencyanid*;

h) Benzolderivate mit *Glykol*;

i) Halogenderivate mit *Äthylencyanid* oder *Glykol*, Phenole mit *Wasser*;

k) ätherische Öle mit *Glykol*;

l) wäßrige Lösungen anorganischer Stoffe mit *Butanol* oder *Phenol*.

Sämtliche Testsubstanzen wurden besonders gereinigt, bis der Literaturwert des Siedepunktes erreicht war. Außerdem wurde der Brechungsindex bestimmt, um die Ergebnisse reproduzierbar zu machen. Mit den erwähnten Testsubstanzen wurde nun eine Reihe organischer Flüssigkeiten untersucht, die in folgenden Tabellen angegeben sind:

1. Reinheitsprüfung und Identifizierung von Substanzen.

Testsubstanz: doppelt dest. Wasser, $n_D^{20} = 1{,}330$.

	MT_k	n_D
Cyclohexanon	200,0°	$1{,}4526_{23}$
Cyclohexanol	182,5°	$1{,}4650_{20}$
Äthylencyanid	59,0°	$1{,}4165_{63}$

Testsubstanz: Paraffinöl, $n_D^{20} = 1{,}4770$.

Allylalkohol	103,5°	$1{,}4130_{18}$
Butyronitril	68,5°	$1{,}3816_{24}$
Dichloressigsäure	111,0°	
Furfurol	147,2°	$1{,}5261_{18}$
Methoxypropionsäure	211,0°	$1{,}4133_{18}$
Pyridin	33,5°	$1{,}5067_{20}$
o-Toluidin	60,5°	$1{,}5728_{20}$
m-Toluidin	68,5°	$1{,}5711_{20}$

Testsubstanz: Glykol, $n_D^{20} = 1{,}4294$ (Destilliert bei 100°, 15 mm Hg).

Acetophenon	58,0°	$1{,}5338_{20}$
Benzylcyanid	74,0°	$1{,}5211_{20}$
p-Bromanisol	184,0°	$1{,}5638_{20}$
o-Chlorjodbenzol	207,5°	$1{,}5830_{16{,}5}$
Dichlordiäthyläther (Chlorex)	117,0°	$1{,}5261_{20}$
Chlorbenzaldehyd	100,0°	$1{,}5662_{20}$
p-Methylacetophenon	92,5°	$1{,}5339_{20}$
o-Nitroanisol	121,0°,	$1{,}5613_{20}$
m-Dibrombenzol	118,0°	$1{,}6063_{18}$
o-Tolunitril	202,0°	$1{,}5272_{23}$
Trikresylphosphat (technisch)	224,0°	$1{,}5530_{20}$
Thiophen	155,5°	$1{,}5288_{18}$

Anwendungsmöglichkeiten der in dieser Arbeit neu angegebenen Testsubstanzen:

Testsubstanz: Anilin, $n_D^{20} = 1{,}5840$ (frisch destill.).

n-Heptan	62,5°	$1{,}3866_{20}$
n-Oktan	74,5°	$1{,}3965_{20}$
n-Nonan	77,5°	$1{,}4047_{20}$
n-Dekan	79,8°	$1{,}4153_{20}$
n-Undekan	88,0°	$1{,}4186_{20}$
Paraffinöl	114,0°	$1{,}4771_{20}$
c-Hexan	38,5°	$1{,}4264_{20}$

Testsubstanz: absolutes Methanol, $n_D^{20} = 1{,}3313$.

n-Pentan	38,0°	$1{,}3601_{20}$
n-Heptan	65,5°	$1{,}3866_{20}$
n-Oktan	82,0°	$1{,}3965_{20}$
n-Nonan	94,0°	$1{,}4047_{20}$
n-Dekan	101,5°	$1{,}4157_{20}$
n-Undekan	113,5°	$1{,}4186_{20}$
c-Pentan	39,0°	$1{,}3606_{20}$
Methyl-c-Pentan	47,2°	$1{,}4262_{20}$
cis-o-Dibrom c-Hexan	48,5°	$1{,}4596_{20}$

Testsubstanz: Trikresylphosphat[1] $n_D^{20} = 1{,}5530$.

n-Oktan	49,2°	$1{,}3965_{20}$
n-Nonan	52,0°	$1{,}4047_{20}$
n-Dekan	56,5°	$1{,}4157_{20}$
n-Undekan	60,5°	$1{,}4186_{20}$
Paraffinöl	101,5°	$1{,}4771_{20}$
Glykol	223,5°	$1{,}4294_{20}$
Glycerin	311,5° u. Z.	$1{,}4715_{20}$

Testsubstanz: Ameisensäure, 76%[2]

Chloroform	151,5°	$1{,}4442_{20}$
Bromoform	207,5°	$1{,}5959_{20}$
Methylenchlorid	87,0°	$1{,}4254_{18}$
Äthylenchlorid	92,0°	$1{,}4440_{18}$
Äthylenbromid	156,0°	$1{,}5384_{19}$

Testsubstanz: Glycerin, $n_D^{20} = 1{,}4715$ (Destill. 180°, 12 mm Hg).

Aceton	99,5°	$1{,}3589_{20}$
Acetylaceton	133,5°	$1{,}4541_{17}$
Acetonylaceton	68,0°	$1{,}4240_{17}$
Äthylidenaceton	147,0°	$1{,}4212_{15}$
Mesityloxyd	176,5°	$1{,}4445_{20}$
Phoron	276,0°	$1{,}4998_{20}$
Methyläthylketon	166,0°	$1{,}3790_{19}$
Acetophenon	185,5°	$1{,}5338_{20}$
p-Methylacetophenon	215,0°	$1{,}5354_{19}$
c-Hexanon	129,5°	$1{,}4526_{20}$
Acetonitril	90,0°	$1{,}3441_{18}$
Nitrobenzol	228,0°	$1{,}5519_{20}$
o-Toluidin	154,5°	$1{,}5728_{20}$
m-Toluidin	119,5°	$1{,}5711_{20}$
n-Butyraldehyd	166,0°[3]	$1{,}3945_{18}$
n-Capronaldehyd	65,0°[3]	

[1] Gemisch der drei Stellungsisomeren (technisches Produkt).

[2] Eine höher konzentrierte Ameisensäure ist weniger geeignet, da diese sich beim Erhitzen zersetzt.

[3] Bei den Aldehyden ist nur die Temperatur beim erstmaligen Verschwinden des Meniskus exakt reproduzierbar.

Testsubstanz: Heptan, $n_D^{20} = 1{,}3866$ (destill.).

Methoxyessigsäure	171,0°	$1{,}4160_{18}$
Methoxypropionsäure	94,5°	$1{,}4133_{18}$
Furfurol	88,0°	$1{,}5261_{18}$
Anilin	62,5°	$1{,}5840_{20}$

Heptan eignet sich als Testsubstanz für alle Verbindungen, deren MT_k mit Paraffinöl zu hoch ist, bzw. nicht mehr erreicht wird und hat außerdem den Vorteil der Reinsubstanz für sich.

Testsubstanz: Äthylencyanid, n_D^{63} 1,4165, Fp. 53° (Destill.: 150°, 15 mm Hg).

Benzol (thiophenfrei)	49,5°	$1{,}4996_{20}$
Rohbenzol	47,0°	$1{,}4998_{20}$
Fluorbenzol	60,0°	$1{,}4667_{20}$
Chlorbenzol	121,5°	$1{,}5246_{20}$
Brombenzol	129,0°	$1{,}5598_{20}$
Jodbenzol	149,0°	$1{,}6215_{18}$
o-Dichlorbenzol	154,5°	$1{,}5457_{20}$
m-Dichlorbenzol	189,0°	$1{,}5421_{25}$
p-Dichlorbenzol	175,5°	
m-Dibrombenzol	199,0°	$1{,}6063_{18}$
p-Dibrombenzol	201,5°	
o-Xylol	163,5°	$1{,}5009_{20}$
m-Xylol	174,2°	$1{,}4969_{20}$
p-Xylol	177,0°	$1{,}4955_{20}$
o-Jodtoluol	198,0°	$1{,}6047_{25}$
p-Jodtoluol	188,2°	
Toluol	134,5°	$1{,}4938_{20}$
Destill. Wasser	59,0°	$1{,}3330_{20}$

Ätherische Öle.

Da es sich hier meist um komplizierte Gemische handelt, hat die MT_k als Kennzahl eines Öles nur einen Wert, wenn sie als Grenzwerte aus einer Reihe einwandfrei erkannter Öle derselben Sorte, aber verschiedener Herkunft festgelegt sind. Von den einzelnen Ölen stand uns meist nur eine Probe zur Verfügung und auch für diese konnte infolge des Alters von der Firma Schimmel & Co., der für die Überlassung noch bestens gedankt sei, keine Garantie übernommen werden. Es sei daher die folgende Tabelle nur als Orientierung gedacht und als Beweis, daß auch bei ätherischen Ölen die MT_k als Kennzahl Aussicht auf erfolgreiche Anwendung bietet. Es wird damit die Beurteilung und Reinheitsprüfung eines Öles durch eine weitere leicht bestimmbare Konstante verbessert. Leider liegt die MT_k bei den meisten Ölen ziemlich hoch; sie erreicht zuweilen fast die Zersetzungstemperatur, so daß bei der Bestimmung ein längeres Verweilen bei höherer Temperatur unzweckmäßig ist und

der jeweils erste Wert abgelesen werden soll. Nur dieser ist reproduzierbar. Auch besteht hier die Möglichkeit, daß durch n_D-Gleichheit ein Verschwinden des Meniskus vorgetäuscht wird. Die folgende Tabelle zeigt die erhaltenen Werte.

Mischungstemperaturen ätherischer Öle. Testsubstanz Glykol.

Ätherisches Öl	MT_k	n_D
Anethol	199,5°	$1{,}5615_{18}$
Anisöl	201,5°	$1{,}5531_{20}$
Sternanisöl	186,5°	$1{,}5545_{20}$
Fenchelöl	174,5°	$1{,}5346_{18}$
Citronellöl (Ceylon II)	258,0°	$1{,}4747_{18}$
Citronellal (techn.)	191,0°	$1{,}4745_{18}$
Citral	133,5°	$1{,}4903_{19}$
Cineol	222,5°	$1{,}4585_{16}$
Eukalyptusöl	243,0°	$1{,}4604_{20}$
Kümmelöl	201,5°	$1{,}4874_{25}$
Carvon	100,5°	$1{,}4969_{25}$
Latschenkieferöl	313,0°	$1{,}4766_{18}$
d-Limonen	254,0°	$1{,}4750_{20}$
Pfefferminzöl	234,5°	$1{,}4528_{18}$
Salbeiöl	216,5°	$1{,}4692_{18}$
Thymianöl	246,0°	$1{,}4870_{20}$
Terpentinöl	286,0°	$1{,}4710_{20}$

Was die Ergebnisse dieser Tabelle betrifft, so sei — abgesehen von den aus ihr abzuleitenden binären Systemen bzw. Gehaltsbestimmungen (siehe S. 333) — auf das Limonen hingewiesen, mit dem das Latschenöl verfälscht werden kann (*Fischer*[16]). Die fast 59° betragende Differenz der beiden MT_k dürfte sich zum Nachweis und zur Bestimmung des Limonens benützen lassen. Voraussetzung ist, wie schon erwähnt, die Prüfung mehrerer Proben von Latschenöl.

2. Analyse binärer Gemische.

Hier kann für die Testsubstanz die oben aufgestellte Forderung der „Polyvalenz" fallen gelassen werden, wenn nur eine große Differenz der MT_k einer kleinen Änderung der prozentischen Änderung der Probe entspricht. Es wird dadurch eine hohe Genauigkeit erzielt. Im folgenden seien die Resultate der Analyse von 30 binären, zum Großteil organischen Gemischen angegeben. Als Testsubstanzen werden verwendet a) für anorganische Verbindungen Phenol und n-Butanol, b) für organische Systeme Äthylencyanid, Wasser, Glykol, Acetophenon, Aceton und Paraffinöl.

Aus den Kurven lassen sich die Prozentzahlen der Gemische, bei bekannter MT_k leicht ablesen. Außerdem ist die Genauigkeitsgrenze vermerkt; das ist die Änderung der prozentischen Zusammensetzung der

Gemische bei $^1{}_2{}^\circ$ Temperaturveränderung. $^1/_2{}^\circ$ ist die Genauigkeit des Mikroschmelzpunktapparates nach *Kofler*.

System HCl—H_2O und HBr—H_2O, Test: Phenol.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	
66°	Wasser		
157°	HCl 7 n	0,0385 n	Beide Kurven sind durch je 18 Fixpunkte gestützt
	HCl 0—1,2 n	0,0175 n	
113,2°	HBr 4,5 n	0,0475 n	
	HBr 0—1,8 n	0,0265 n	

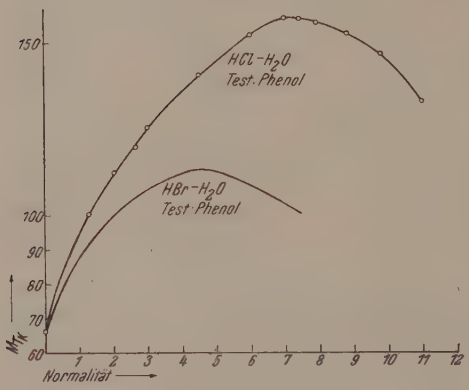


Diagramm 1.

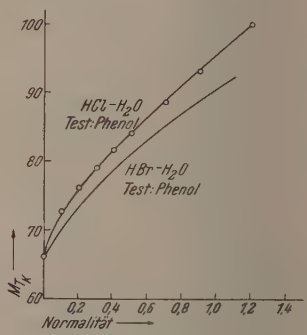


Diagramm 2.

Das als Test verwendete Phenol wurde durch fraktionierte Destillation gereinigt und zeigte gegen Wasser eine MT_k von 66°. Salzsäure zeigt bei siebenfacher Normalität und Bromwasserstoffsäure bei viereinhalbfacher Normalität ein Maximum, so daß die MT_k in dieser Gegend kein einwandfreies Resultat liefert. Ferner tritt ein Wechsel der Dichte ein und zwar bei HCl von 1,0 n bis 1,2 n und bei HBr von 0,5 n bis 0,6 n, wodurch eine Ablesung in diesen Bereichen nicht möglich ist. Ursprünglich befindet sich infolge Zentrifugierens und Neigens des Heiztisches die schwere Flüssigkeit unten. Infolge des Dichtewechsels fließen die Flüssigkeiten durcheinander, lösen sich in Tröpfchen auf ohne sich zu mischen und schließlich befindet sich die schwerer gewordene Flüssigkeit unten. Nach erfolgtem Platztausch bildet sich wieder ein einziger Meniskus aus. Jodwasserstoffsäure läßt sich wegen ihrer Zersetzlichkeit nicht analysieren.

Aus der Normalität sind die Prozente zu berechnen nach den Tabellen von *Landolt-Björnstein* I/39 0 (1923).

System Ammoniak—Wasser und Superoxyd—Wasser, Test: n-Butanol.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	
128,5°	Wasser		
41,8°	23,55% NH_3	0,15%	14 Fixpunkte
91,5°	30% H_2O_2	0,4%	10 Fixpunkte

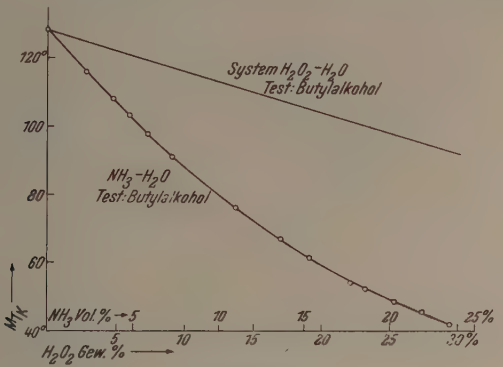


Diagramm 3.

Beim Ammoniak wurde der Gehalt durch Titration bestimmt und in Vol.-% umgerechnet. Das Zuschmelzen muß hier besonders bei höheren Konzentrationen wegen der Gefahr einer Verdunstung vorsichtig erfolgen.

Das Perhydrol und die Verdünnungen wurden durch Titration mit Permanganat bestimmt.

Organische Systeme.

Die Prozentangaben beziehen sich, wenn nichts anderes angegeben, auf Vol.-%.

System Rohbenzol—Xylol—Toluol, Test: Äthylencyanid 63° = 1,1465, Fp. = 53°, Destill. 150° bei 15 mm Hg.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
47°	Rohbenzol		1,4998
134,5°	Toluol	0,55%	1,4860
187°	Xylol	0,35%	1,4935

Für diese Eichkurve wurde Handelsbenzol und auch käufliches Xylol und Toluol verwendet. Es können hier relativ kleine Mengen Benzol in den beiden anderen Flüssigkeiten nachgewiesen bzw. bestimmt werden (s. Diagramm 4).

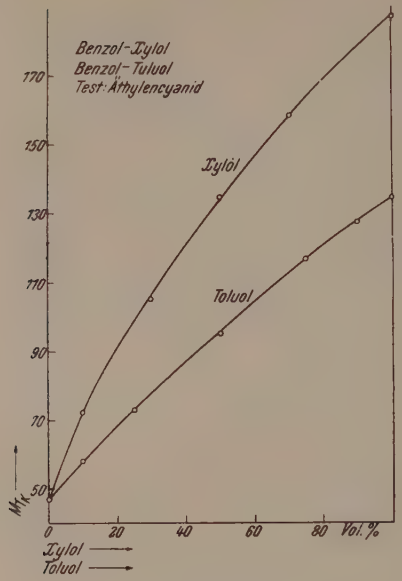


Diagramm 4.

System Benzol—Halogenbenzol, Test: Äthylencyanid.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
47°	Benzol		1,4998
121,5°	Cl-Benzol	0,65%	
129°	Br-Benzol	0,62%	
149°	J-Benzol	0,5%	1,6170
60°	F-Benzol	—	1,4667

Diagramm 5.

System Benzol—Dichlorbenzole, Test: Äthylencyanid.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
47°	Benzol		1,4996
154,5°	o-Dichlorbenzol	0,5%	1,5457
189°	m-Dichlorbenzol	0,35%	1,5421 (bei 25°)
175,5°	p-Dichlorbenzol[1]	0,4%	

Diagramm 6.

[1] p-Dichlorbenzol ist in Gewichtsprozent angegeben.

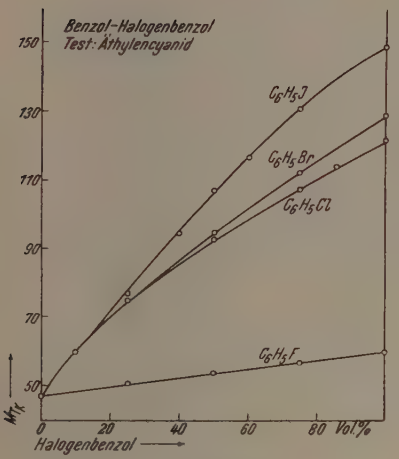


Diagramm 5.

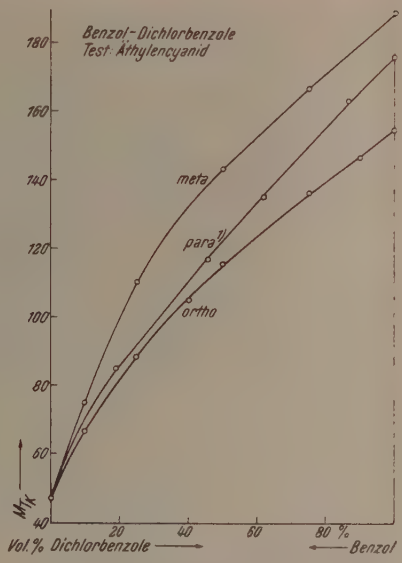


Diagramm 6.

System Reinbenzol—Thiophen, Test: Äthylencyanid.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
49,5°	Benzol rein		1,4996
29,5°	mit 20% Thiophen	0,5%	1,5048
—	Thiophen allein		1,5290

Das vorher erwähnte Rohbenzol enthält somit ca. 3% Thiophen.

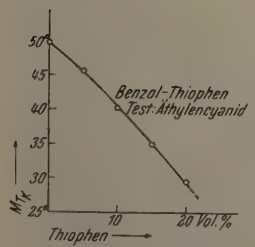


Diagramm 7.

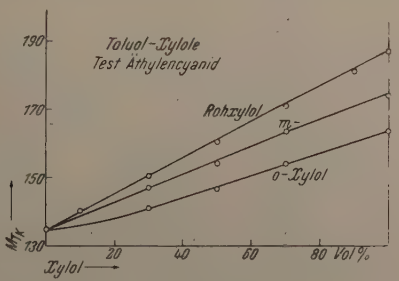


Diagramm 8.

System Toluol—Xylole, Test: Äthylencyanid.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
134,5°	Toluol		1,4938
187°	Rohxylol	1%	1,4936
163,5°	o-Xylol	1,6%	1,5009
174,2°	m-Xylol	1,25%	1,4969

Diagramm 8.

Systeme Chlorbenzol—Dichlorbenzole und Brombenzol—p-Dibrombenzol. Test: Äthylencyanid.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
121,5°	Cl-Benzol		1,5246
154,5°	o-Dichlorbenzol	1,5%	1,5457
189°	m-Dichlorbenzol	0,75%	1,5421
129°	Brombenzol		
201°	p-Dibrombenzol	0,7%	

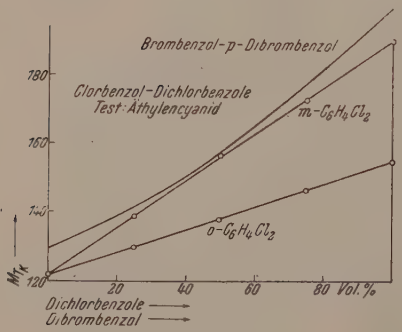


Diagramm 9.

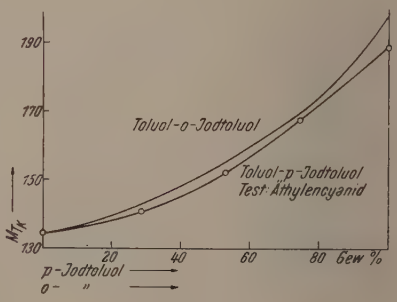


Diagramm 10.

System Toluol—Jodtoluole, Test: Äthylencyanid.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
134,5°	Toluol		1,4938
198°	o-Jodtoluol	0,8%	1,6087
188,2°	p-Jodtoluol	0,85%	

Diagramm 10.

System Phenol—Cyclohexanol und Phenol—Anilin, Test: Wasser.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
66°	Phenol		1,5425 bei 18°
182,5°	Cyclohexanol	0,45%	1,4650 bei 20°
167°	Anilin	0,5%	1,5850

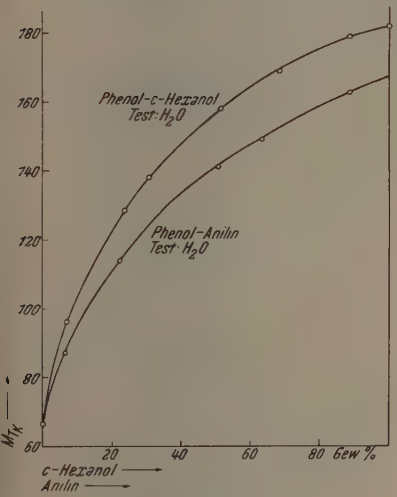


Diagramm 11.

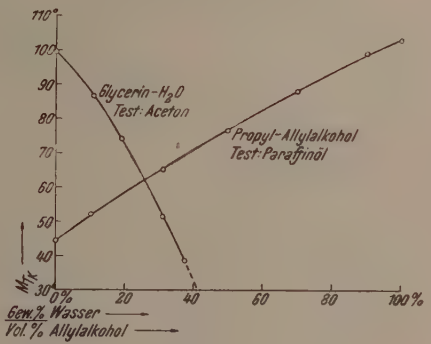


Diagramm 12.

System Propyl—Allylalkohol, Test: Paraffinöl, und Glycerin—Wasser, Test: Aceton.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
44,5°	Propylalkohol		1,3839
103,5°	Allylalkohol	0,85%	1,4130
99,5°	Glycerin		1.4715
38,5°	Glycerin mit 37,5% H_2O	0,3%	1,4161
—	Wasser		1,3330

Propylalkohol zeigt als gesättigte Verbindung eine größere Löslichkeit als der ungesättigte Allylalkohol.

Diagramm 12.

System Glykol—Glycerin und Glykol—Wasser, Test: Acetophenon $n_D = 1{,}5338$.

MT_k		Genauigkeitsgrenze	$n_D^{20°}$
58°	Glykol		1,4294
185°	Glycerin	0,4%	1,4715
149°	Glykol mit 45% H_2O	0,25%	1,3889
220—222°	Reines Wasser	—	1,3330

Die Analyse von Glycerin-Glykol-Gemischen hat neuerdings wieder Bedeutung erlangt, da das giftige Glykol als Glycerinsubstitution aufgefunden wurde (*Scheunemann*[17]). Für die Aufstellung der Eichkurve wurde wasserfreies Glycerin (Destillation bei 180° und 15 mm Hg) und Glykol (Destillation bei 100° und 15 mm Hg) verwendet.

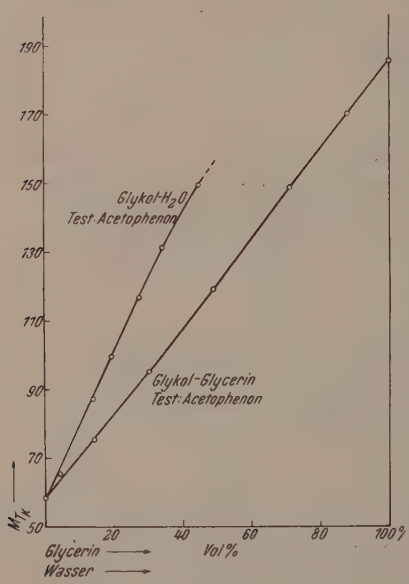


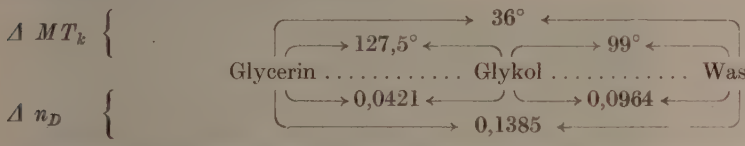
Diagramm 13.

Bei wasserhaltigem Glycerin verschiebt sich die MT_k um nur wenige Grade nach oben, da die Differenz zwischen Glycerin wasserfrei (MT_k 185,5°) und Wasser (MT_k 220 bis 222°) nur etwa 35° beträgt (Test: Acetophenon), daher eine Bestimmung des Wassergehaltes zu ungenau würde.

Zur Analyse des Systems Glycerin-Glykol-Wasser muß daher außer der MT_k noch der n_D herangezogen werden. Es ist hier die n_D-Differenz Glycerin-Wasser mit 0,1385, etwa 3,3 mal größer als die Differenz Glycerin-Glykol (0,0421). Bei der MT_k ist das Verhältnis gerade umgekehrt, d. h. das Glykol gibt den 3,5fachen Effekt wie das Wasser, wobei allerdings die Werte sich gegenläufig verhalten. Es ergibt z. B. ein Gemisch von 80,8% Glycerin + 9,5% Glykol + 9,7% Wasser eine MT_k von 178°, während ein Gemisch von wasserfreiem Glycerin mit 9,5% Glykol eine MT_k von 173,8° zeigt. Der Zusatz von etwa 10% Wasser ergibt also nur eine Änderung der MT_k um 4,2°. Anderseits ist dies wieder ein Vorteil, da geringe Mengen Wasser die Genauigkeit der Bestimmung von Glykol in Glycerin nicht wesentlich beeinflussen.

Die Analyse eines ternären Gemisches und die Erstellung eines Diagramms nach Art des *Gibbs*chen Dreiecks auf Grund der MT_k und des n_D

sei einer späteren Mitteilung vorbehalten. Eine Gegenüberstellung der Differenzwerte ergibt folgendes Bild:



Was die Bedeutung des n_D bei den beschriebenen Systemen betrifft, gibt folgende Zusammenstellung eine Übersicht:

	n_D-Diff. pro 100%:
Rohbenzol—Xylol bzw. Toluol	0,0063
Reinbenzol—Thiophen	0,0294
Reinbenzol—Jodbenzol	0,1172
Reinbenzol—o- und m-Dichlorbenzol	0,0460
Chlorbenzol—o-Dichlorbenzol	0,0255
Chlorbenzol—m-Dichlorbenzol	0,0219
Toluol—o-Jodtoluol	0,1150
Toluol—Rohxylol	0
Toluol—o-Rohxylol	0,0071
Toluol—m-Rohxylol	0,0031
Phenol—Cyclohexanol	0,0763
Phenol—Anilin	0,0425
Allyl—Propylalkohol	0,0291

Die n_D-%-Kurven verlaufen meist schwach nach unten (gegen die Prozentzahlen hin) durchgebogen.

Gehaltsbestimmung ätherischer Öle.

Carvon im Kümmelöl: Nach *Gildemeister*[18] stellten wir uns carvonfreies Kümmelöl her und versetzten dieses mit steigenden Mengen Carvon. Die durch 9 Punkte gestützte Kurve verläuft steil (die MT_k beträgt: carvonfreies Öl 241,5°—Carvon 100,5°) so daß die Genauigkeitsgrenze sich auf 0,35% Carvon beläuft (die n_D-Differenz = 0,0165).

Menthol im Pfefferminzöl: Da die Entfernung des Menthols nicht quantitativ gelingt, verwendeten wir als Basis ein Öl mit 52,3% Gesamtmenthol (MT_k = 234,5°). (Estermenthol 20%). Unsere Kurve beginnt daher bei 52,3% (32,2% freies) M. und endet bei 90%, wobei die Werte über 83,7% (MT_k = 159°) wegen schlechter Sichtbarkeit des Meniskus ungenau sind. Die Genauigkeitsgrenze = 0,2% (s. Diagramm 14).

Der Einfluß des Estermenthols wäre noch an Hand mehrerer Öle verschiedener Herkunft zu prüfen, so daß der Kurve bisnun keine allgemeine Gültigkeit zukommt; es sollte lediglich auf die Möglichkeit hingewiesen und die große Empfindlichkeit der Probe betont werden. Auch beim Kümmelöl ist zu bedenken, daß Änderungen im carvonfreien

Teil auch die MT_k beeinflussen werden. Bindende Aussagen hinsichtlich der Grenzwerte können — wie schon auf S. 325 erwähnt — nur dann gemacht werden, wenn eine größere Anzahl von Ölen geprüft werden kann. Bisher hatten wir nicht die Möglichkeit hierzu.

In ähnlicher Weise läßt sich wahrscheinlich Anethol in Anis-, Sternanis- und Fenchelöl bestimmen. Die Genauigkeitsgrenze dürfte sich auf 1% belaufen. Auch der Cineolgehalt im Eukalyptusöl dürfte mit 0,5% Genauigkeit bestimmbar sein. Diesbezügliche Arbeiten, auch hinsichtlich der Wertbestimmung von Ölen aus einzelnen Pflanzen oder wenigen Blättern — einige Milligramm Öl genügen! — werden fortgesetzt.

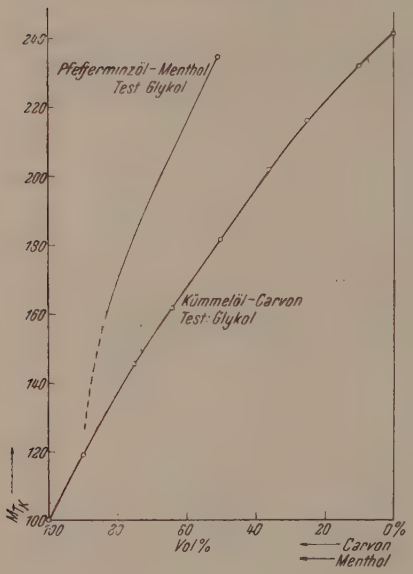


Diagramm 14.

Zusammenfassung.

Das in der ersten Mitteilung bekanntgegebene Mikroverfahren zur Bestimmung der kritischen Mischungs- bzw. Entmischungstemperatur wurde weiter ausgebaut, und zwar:

1. Zur Identifizierung und Reinheitsprüfung unter Heranziehung weiterer Testsubstanzen wie Äthylencyanid, Glycerin, Anilin, Ameisensäure, Methanol, wobei über 100 organische Verbindungen, auch ätherische Öle, geprüft wurden.

2. Zur quantitativen Bestimmung binärer Gemische. Es wurden 30 Systeme, 26 organische und 4 anorganische, untersucht. Als Test hat sich besonders Äthylencyanid bewährt, daneben auch Phenol, Butanol, Acetophenon u. a. Von allen Systemen liegen Eichkurven vor. Aus den erhaltenen Temperaturen können die Prozentzahlen des Gemisches abgelesen werden, die mittlere Genauigkeitsgrenze liegt durchschnittlich um 0,5%, aber auch niedriger. Zur Analyse werden nur 1 bis 2 mg Substanz benötigt.

Literatur.

[1] *L. Kofler*, Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Innsbruck: Wagners Universitätsverlag 1948.

[2] *R. Fischer* und *G. Karasek*, Mikrochemie **33**, 316 (1947).

[3] *L. Crismer*, Assoc. belge de Chemistes 1895, Nr. 5, S. 1. C. 1895, II. 1059. Bull. de la Soc. Chim. **18**, 18 (1904). C. 1904. I. 1479.
[4] *A. L. Clark*, Phil. Magaz. (6) **24**, 451 (1912). C. 1912. I. 1604.
[5] *G. Chavanne* und *L. Simon*, C. r. d. Acad. d. Sciences **168**, 1111 (1918). C. 1919. IV. 473, **169**, 70 (1919). C. 1919. IV. 798.
[6] *W. Charpentier*, Chem. Ztg. **1932**, 883.
[7] *D. C. Jones*, J. Chem. Soc. London **123**, 1374, 1384 (1923), **115**, 1075 (1919), C. 1924. I. 1139.
[8] *D. C. Jones* und *S. Amstell*, J. Chem. Soc. London **131**, 1316 (1930), II. 3060.
[9] *N. V. Sidgwick*, J. chem. Soc. London **125**, 527 (1925).
[10] *H. Rosset*, Ann. chim., anal. appl. **18**, 260, 49 (1913), C. 1913. I. 1237, II. 815.
[11] *E. Louise*, J. Pharm. et Chem. (7) **4**, 193 (1911), C. 1911. II. 1272, 1386.
[12] *R. Reiberger*, Österr. Chem. Ztg. **50**, 55 (1949).
[13] *V. Rothmund*, Z. physik. Chem. **26**, 433 (1898).
[14] *I. Ostromysslensky*, J. prakt. Chem. **76**, 164 (1907).
[15] *J. Timmermanns*, Z. physik. Chem. **58**, 129 (1907).
[16] *R. Fischer*, Pharm. Zentralhalle **82**, 37 (1941).
[17] *B. Scheunemann*, Die Pharmazie **2**, 10 (1947).
[18] *E. Gildemeister*, Die ätherischen Öle. Verl. Schimmel & Co., Miltitz 1931. III. Aufl. Bd. I, S. 724, 741 und Bd. III. S. 481.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.

Über Methoden zur Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen.

Von

H. Lieb und **W. Schöniger.**

Mit 14 Abbildungen.

(Eingelangt am 15. Juni 1949.)

Den Anstoß zur Ausarbeitung von Methoden zur Darstellung organischer Präparate unter Verwendung geringer Substanzmengen gaben die Beobachtungen, die im organisch-präparativen Praktikum bei dem seit mehreren Jahren bestehenden Mangel an Chemikalien und an Material jeder Art gemacht wurden. Es zeigte sich nämlich, daß einerseits viele Präparate wegen des Fehlens der notwendigen Chemikalien überhaupt nicht dargestellt werden können, anderseits infolge der großen Zahl von Studierenden die vorhandenen gewöhnlichen Chemikalien oft nicht ausreichen, um die in den gebräuchlichen Praktikumsbüchern vorgesehenen Mengen ($^1/_2$ bis 1 Mol und darüber) auszugeben. Außerdem sind die Anschaffungskosten der notwendigen Glasgeräte derzeit so hoch, daß viele Studenten sie nicht aufbringen können. Es wurde daher der Versuch unternommen, die Mengen der Ausgangsmaterialien auf etwa den 40. Teil derjenigen herabzusetzen, die in dem Werk von *Gattermann-Wieland* „Die Praxis des organischen Chemikers“[1] angegeben sind. Damit konnte gleichzeitig der Aufwand an Glasgeräten wesentlich verringert werden. Die meisten Präparate lassen sich mit einfachen Glasapparaten darstellen, die der Student bei einiger Fertigkeit im Glasblasen selbst herstellen kann.

Das Arbeiten mit kleinen Substanzmengen bringt aber auch noch den Vorteil, daß der Zeitaufwand für ein Präparat meistens viel geringer ist und daher in der gleichen Zeit wesentlich mehr organische Verbindungen dargestellt werden können, was jedenfalls im Sinne einer gründlichen Ausbildung liegt. Die Verwendung geringer Substanzmengen zwingt ferner den Praktikanten zu einem besonders sorgfältigen und sauberen

Arbeiten, da er doch annähernd die gleiche Ausbeute erreichen kann und soll als mit größeren Ansätzen.

Mit einer solchen Arbeitstechnik sollen keineswegs die bisher üblichen Methoden ausgeschaltet werden. Es soll im Gegenteil in entsprechend sinnvoller Auswahl ein Teil des organisch-präparativen Programms nach den alten Verfahren, ein Teil nach den neuen Arbeitsvorschriften durchgeführt werden. Auf diese Weise lernt der Anfänger am besten die vielfachen Vorteile des Arbeitens mit kleinen Substanzmengen kennen, gleichzeitig lernt er aber auch die in den chemischen Laboratorien allgemein üblichen und für viele Zwecke unentbehrlichen Geräte und Glasapparate kennen. Die Aufteilung des Stoffes wird sich dabei nach dem jeweiligen Chemikalienbestand und den vorhandenen Geräten richten. Bei schwer zu beschaffenden Ausgangsstoffen wird man jedenfalls die kleinen Mengen wählen. In solchen Fällen, wo das erhaltene Reaktionsprodukt zur Darstellung weiterer Präparate dienen soll, wird man selbstverständlich zur Gewinnung des ersten Präparates einen etwas größeren Ansatz wählen. Wie sehr an Material gespart werden kann, ergibt sich, um nur ein Beispiel anzuführen, daraus, daß die für die Darstellung von Anilin in der Vorschrift von *Gattermann-Wieland*[1] angegebene Menge Nitrobenzol ausreicht, um 40 Studenten das gleiche Präparat herstellen zu lassen.

Für die Aufgaben, die der Studierende im organisch-chemischen Praktikum zu leisten hat und die in erster Linie in der Synthese bestimmter Substanzen aus bestimmten Ausgangsmaterialien, sowie in der Untersuchung von Naturstoffen, weiters in der Isolierung und Reinigung der dabei erhaltenen Produkte sowie in ihrer Identifizierung und Charakterisierung bestehen, sind eine Reihe von Glasgeräten erforderlich. Da diese den verwendeten Mengen angepaßt sein müssen, war es notwendig, bei unseren Versuchen mit Substanzmengen von etwa $^1/_{40}$ Mol Glasgeräte von entsprechend kleinen Dimensionen zu entwickeln und diese möglichst einfach zu gestalten, damit sie der Praktikant, zum Teil wenigstens, selbst anfertigen kann. Den Aufwand an verschiedenartigen teuren Glasgeräten konnten wir dadurch umgehen, daß wir für die Durchführung der meisten Reaktionen *kurze Reagenzgläser* benützen und um das Filtrieren mit Filterpapier möglichst zu vermeiden, zur Trennung fester von flüssigen Stoffen die *Zentrifuge* heranziehen.

Da wir für die Synthesen organischer Präparate die Arbeitsvorschriften von *Gattermann-Wieland* meistens ohne Abänderung übernehmen konnten, verweisen wir auf diese und bringen am Schluß nur einige Beispiele davon.

Im Folgenden beschreiben wir die für die verschiedenen synthetischen Arbeiten, insbesondere für das Einwägen, Lösen, Kondensieren, Kristalli-

sieren, Destillieren, Ausschütteln, Extrahieren und Sublimieren notwendigen Glasgeräte. Sie wurden zum größten Teil von uns entwickelt, zum Teil aber auch den Arbeiten anderer Autoren entnommen. Die Angaben über die Maße und die beigegebenen Abbildungen sollen die Selbstherstellung erleichtern.

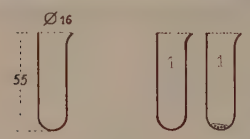


Abb. 1.

Die *Zentrifuge*. Zur Trennung fester Stoffe von Flüssigkeiten ist beim Arbeiten mit geringen Substanzmengen die Zentrifuge (Hand- oder Laboratoriumszentrifuge) unentbehrlich. Denn nur dadurch lassen sich Substanzverluste auf ein Minimum einschränken. Der flüssige Anteil läßt sich nach dem Zentrifugieren meistens leicht abgießen, dekantieren oder mittels eines selbstverfertigten Hebers abhebern oder absaugen. Zur Vermeidung des Aufwirbelns und Mitsaugens von Niederschlag ist der Heber an dem einen Ende nach oben kurz aufgebogen. Der Rückstand wird im Zentrifugenglas auch ausgewaschen.

Zentrifugengläser verschiedener Größe von 100 bis 115 mm Länge und 14 bzw. 35 mm Durchmesser.

Reaktionsgefäße. Zur Durchführung der meisten Reaktionen bedient man sich kurzer Reagenzgläser (70 mm lang, 16 mm Durchmesser), die man sich durch Halbieren von Reagenzgläsern normaler Länge selbst herstellen kann. Zum Abstellen derselben dienen entsprechend gebohrte Korke.

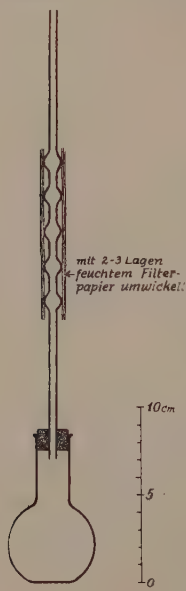


Abb. 2.

Schnabelgläser. Reagenzgläser von etwa 55 mm Länge und 16 mm Durchmesser mit Schnabel dienen zum Auffangen von Destillaten, insbesondere auch zum Abwägen von Substanzen. Hiefür ist es zweckmäßig, sich ein Paar zu markieren, das leichtere gegen das schwerere mit Schrot auszutarieren und die Tara am Grund des Glasgefäßes anzukleben (Abb. 1).

Bechergläser von 10, 25 und 50 ccm Inhalt (je zwei Stück) und *Rundkölbchen* von 50 ccm Inhalt (drei Stück).

Ausgezogene Glasröhrchen zum Zutropfen von Flüssigkeiten und *Glasstäbe* zum Umrühren, die an einem Ende verjüngt sind.

Rückflußkühler. Hiefür genügt ein etwa 30 cm langes Glasrohr (3 bis 4 mm Durchmesser), das mehrere kugelförmige Erweiterungen aufweist (Abb. 2). Zur Kühlung wird dieses mit zwei bis drei Lagen Filterpapier umwickelt und mit kaltem Wasser je nach Bedarf feucht gehalten.

Destillation. Zum Abdestillieren dienen als Kühler verschieden geformte Glasröhrchen, wie die Abbildungen 3 und 4 zeigen. Die Kühlung erfolgt auch hier dadurch, daß das Rohr mit mehreren Lagen Filter-

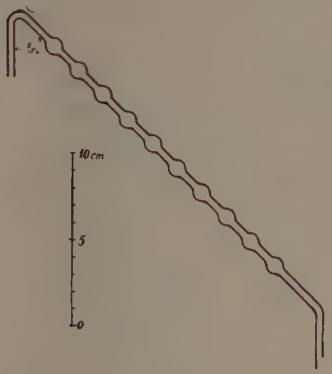


Abb. 3.

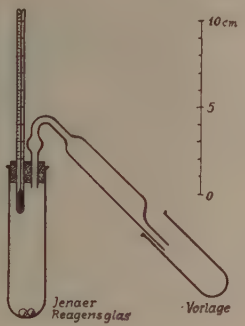


Abb. 4.

papier umwickelt und dieses feucht gehalten wird. Für hochsiedende, bei Zimmertemperatur erstarrende Substanzen eignet sich der Destillationsaufsatz nach Abb. 4. Für die Wasserdampfdestillation, wobei die Filterlage dauernd mit kaltem Wasser bespült werden muß, wird die Filterumwicklung mit einer „Fahne" versehen, damit das Wasser an dieser abtropfen kann und nicht in die Vorlage rinnt (vgl. Abb. 7).

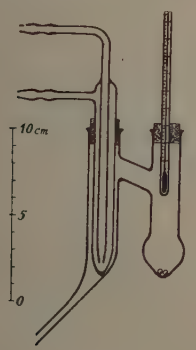


Abb. 5.

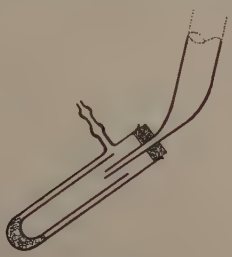


Abb. 6.

Fraktionierte Destillation und Destillation im Vakuum. Hiefür dient der Apparat Abb. 5, der auch gestattet, ein Thermometer einzuführen. Die Kühlung wird durch einen sogenannten Innenkühler erreicht. Als Vorlage werden Schnabelgläser verwendet. Der gleiche Apparat, dessen

Destillationsgefäß für 2 ccm Flüssigkeit reicht, dient auch zur Rektifikation und zur *Destillation im Vakuum*. Zu diesem Zweck wird eine Saugeprouvette mittels eines Gummistopfens angeschaltet, in welcher sich ein Becher ohne Schnabel zum Auffangen des Destillates befindet (Abb. 6).

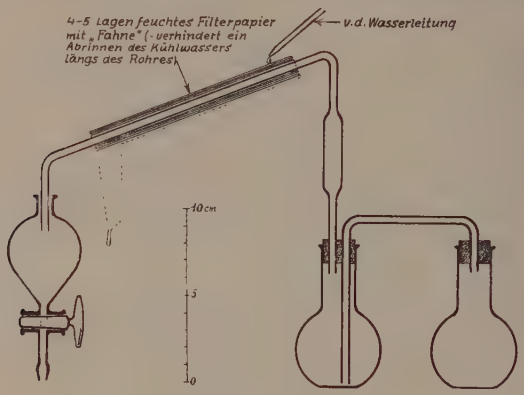
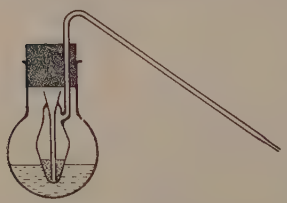


Abb. 7.

Destillation mit Wasserdampf. Für dieses wichtige Reinigungsverfahren sind mehrere Apparate geeignet. Für die Destillation mit nicht allzu geringen Mengen, wie wir sie im Anfängerpraktikum zur Verarbeitung vorschlagen, bedient man sich zweier 50 ccm fassender Stehkölbchen, von denen das eine als Dampfentwickler, das andere zur Aufnahme der mit Wasserdampf abzutreibenden Substanz dient. Der Kühler besitzt im aufsteigenden Schenkel eine Erweiterung, um ein Überspritzen von Destilliergut zu verhindern. Er wird am absteigenden Ast mit mehreren Lagen Filterpapier umwickelt und durch kontinuierliches Befeuchten gekühlt. Die Destillation erfolgt zweckmäßig direkt in einen Scheidetrichter, um Substanzverluste zu vermeiden (Abb. 7).



Mikro-Wasserdampfdestillation
(nach SOLTYS)

Abb. 8.

Für noch kleinere Substanzmengen eignet sich der Apparat von *Pozzi-Escot*.[2] Hier bildet das äußere Gefäß den Dampfentwickler, der zugleich als Heizbad dient. Um ein Rücksaugen der im Innengefäß befindlichen Flüssigkeit zu verhindern, muß dauernd erhitzt werden. Ähnlich gebaut ist der Apparat von *A. Soltys*[3] (Abb. 8). Da das Innenkölbchen mit der zu destillierenden Substanz ganz von Dampf umgeben

ist, können auch darin, wie beim Apparat von *Pozzi-Escot*, während der Destillation keine größeren Wassermengen kondensieren. Bei Unterbrechung der Destillation ist hier ein Zurücksaugen des Inhaltes des inneren in das äußere Kölbchen nicht möglich. Als Auffanggefäß verwendet *Soltys* eine kleine Florentinervorlage, die man sich aus einem Reagenzglas selbst herstellen kann. Damit ist die Trennung der wäßrigen von der öligen Schicht ohne Verlust leicht durchführbar.

Ausschütteln. Hiefür dienen Scheidetrichter von 30 bis 60 ccm Inhalt mit kurzem Abflußrohr. Das bei der Wasserdampfdestillation gewonnene Reaktionsprodukt wird, wie Abb. 7 zeigt, direkt im Scheidetrichter aufgefangen und hier weiter verarbeitet. Zum Ausschütteln

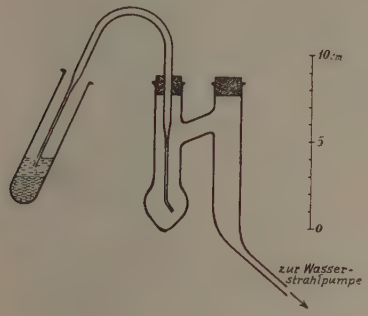


Abb. 9.

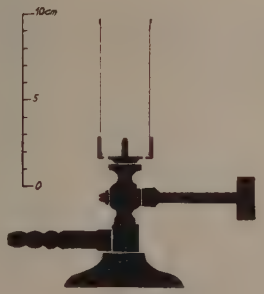


Abb. 10.

von nur 1 bis 2 ccm Flüssigkeit benützt man das kurze Reagenzglas. Nach dem Ausschütteln erfolgt die Trennung mit einem Kapillarheber, d. i. ein gebogenes Glasrohr (3 mm Durchmesser), das an beiden Enden zu Kapillaren ausgezogen ist. Die Überführung erfolgt zweckmäßig direkt in den Destillationsapparat (Abb. 9).

Heizbäder. Hiefür verwendet man Bechergläser entsprechender Größe (100 bis 200 ccm Inhalt). Für Temperaturen über 100° C bis 130° C benützt man als Badflüssigkeit konz. Salzlösungen, und zwar Natriumchlorid bis 108° C, Natriumnitrat bis 120° C, Kaliumcarbonat bis 135° C. Für Temperaturen bis 200° C eignet sich Paraffinöl, bis 220° C Glycerin, bis 280° C konz. Schwefelsäure. Zum Erhitzen über freier Flamme dient der Mikrobrenner (Abb. 10) oder die Sparflamme eines gewöhnlichen Bunsenbrenners. Das Arbeiten mit dem Becherglas als Wasser- oder Heizbad zwecks Durchführung einer Reaktion im kurzen Reagensglas zeigt Abb. 11.

Das *Erhitzen unter Druck* erfolgt entweder in einem zugeschmolzenen, starkwandigen Glasröhrchen, einem sogenannten *Bombenröhrchen* (etwa

100 mm lang, 9 mm Durchmesser) oder für Mengen bis 30 ccm in einem besonderen *Autoklaven*, den der eine von uns für präparative Zwecke entwickelt hat.[4]

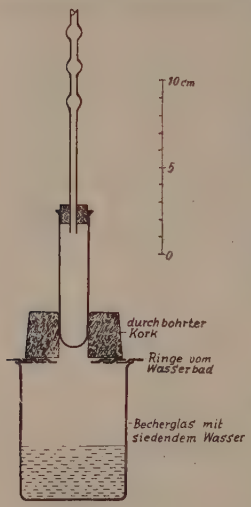


Abb. 11.

Sublimation. Diese läßt sich behelfsmäßig mittels zweier Uhrgläser mit einer dazwischengelegten, durchlochten Filterscheibe durch Erhitzen auf dem Sandbad durchführen. Das obere Uhrglas wird mit feuchtem Filterpapier gekühlt.

Für die *fraktionierte Vakuumsublimation* mit geringen Mengen hat sich der Apparat von *Soltys-Hurka*[5] bewährt, worauf hier nur hingewiesen wird. Über weitere Konstruktionen für sehr kleine Mengen vergl. die Literaturangabe.

Das *Kristallisieren* und *Umkristallisieren* erfolgt mit den hier in Betracht kommenden Substanzmengen in den früher erwähnten Reaktionsgefäßen (kurze Reagenzgläser). Muß die Lösung mit Tierkohle geklärt werden, so arbeitet man in größerer Verdünnung, filtriert durch ein kleines Faltenfilter in ein zweites Reaktionsgefäß und engt das Filtrat je nach der Natur des Lösungsmittels vorsichtig entweder im Heizbad oder über freier Flamme ein.

Gewinnung der reinen Substanz. Die durch Zentrifugieren im Reaktionsgefäß oder Zentrifugenglas gesammelte feste Substanz wird durch Dekantieren (*a*) von der Mutterlauge befreit, durch wiederholtes Aufwirbeln in der geeigneten Waschflüssigkeit und durch anschließendes abermaliges Zentrifugieren gewaschen, von der Waschflüssigkeit durch Dekantieren befreit und dann, wie aus der Abb. 12 ersichtlich ist, zunächst unter Verwendung eines Filterpapierstreifens (*b*), dann noch einer „Filterpapierrolle", die man in das Reaktionsgefäß einschiebt (*d*), von den Resten der Waschflüssigkeit abgesondert.

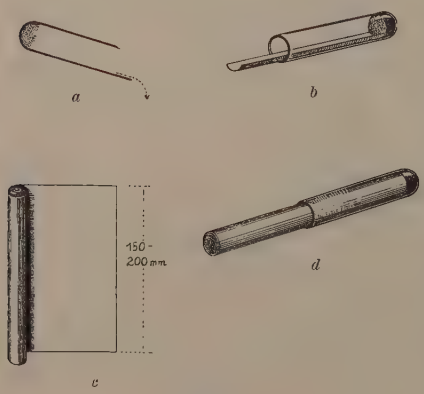


Abb. 12.

Die so vorgetrocknete Substanz wird dann gewöhnlich im Vakuumexsikkator entweder bei Zimmertemperatur oder wenn erforderlich, bei

erhöhter Temperatur vollständig getrocknet. Die Entfernung der Reste von Lösungsmittel und das Trocknen insbesondere bei höherer Temperatur wird zweckmäßig auch in folgender Weise erzielt: Das Reaktionsgefäß mit der durch die Filterpapierrolle vorgetrockneten Substanz wird mit einem einfach durchbohrten Kork verschlossen und mit Hilfe eines rechtwinkelig gebogenen Glasröhrchens an die Wasserstrahlpumpe angeschlossen und längere Zeit abgesaugt. Unter Verwendung eines Heizbades läßt sich so das Trocknen auch bei höherer Temperatur in einfacher Weise durchführen (Abb. 13).

Schmelzpunkts- und Siedepunktsbestimmung. Die zur Prüfung der Reinheit und zur Identifizierung des gewonnenen Reaktionsproduktes notwendige Bestimmung des Schmelzpunktes wird, da im Studentenlaboratorium wohl kaum ein Mikro-

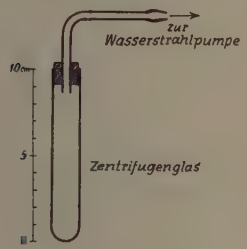


Abb. 13.

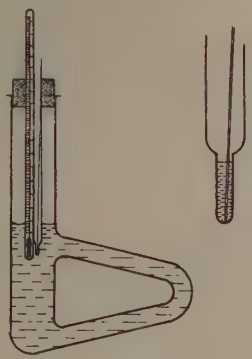


Abb. 14.

Schmelzpunktsbestimmungsapparat nach *L. Kofler*[6], [7] zur Verfügung stehen dürfte, in der üblichen Weise im Kapillarröhrchen durchgeführt.

Die *Siedepunktsbestimmung* mit kleinen Flüssigkeitsmengen läßt sich nach der Methode nach *Siwoloboff*[8] durchführen, und zwar unter Benützung eines gewöhnlichen Schmelzpunktapparates (z. B. Modell nach *Thiele*), vgl. Abb. 14. Da diese Methode wenig bekannt ist, beschreiben wir sie an dieser Stelle.

Ein etwa 100 mm langes Glasröhrchen von 5 bis 6 mm Innendurchmesser ist an einem Ende in 10 mm Länge auf die Hälfte seines Durchmessers verjüngt und zugeschmolzen. In die Verjüngung wird mittels einer Kapillarpipette soviel von der zu untersuchenden Flüssigkeit gegeben, daß diese fast gefüllt ist (etwa 0,1 ccm). In die Flüssigkeit wird dann ein haarfein ausgezogenes Kapillarröhrchen eingetaucht. Dieses wird hergestellt, indem es an einer Stelle verschmolzen und knapp unter der verschmolzenen Stelle abgebrochen wird. Es soll dann noch annähernd solang sein, wie das Siederöhrchen. Das Siederöhrchen mit der Kapillare wird dann am Thermometer mittels einer Stahldrahtfeder befestigt und in den Schmelzpunktapparat gebracht. Bei Annäherung an den Siedepunkt beginnen einzelne Luft-

bläschen aus dem Kapillarröhrchen auszutreten. Als Siedetemperatur gilt jene, bei der in regelmäßiger Folge Gasbläschen durch die Flüssigkeit entweichen. Für die Wiederholung der Bestimmung muß nach Abkühlung ein neues Kapillarröhrchen verwendet werden.

In diesem Zusammenhang sei noch auf einige weitere Apparate hingewiesen, die beim Arbeiten mit kleinen Mengen Verwendung finden. Für die Extraktion von Stoffen fester oder halbfester Konsistenz (50 bis 100 mg) eignet sich besonders der *Mikroextraktor* von *G. Gorbach*,[9] der für Mengen von mehreren 100 mg bis 1 g von *Volkmann-Bartelt*[10] etwas abgeändert wurde. Zum Extrahieren von Flüssigkeiten bis 20 ccm ist der Apparat von *Barrenscheen*[11] sehr gut geeignet. Zur *Vakuumdestillation* sehr kleiner Mengen wird vorteilhaft die Apparatur von *Ellis-Weygand*[12] benützt. Damit kann man einige Tropfen des Destillates auffangen und Fraktionierungen leicht durchführen, da die Vorlage drehbar ist. Auch auf die sogenannte *Zentrifugalnutsche* von *Pregl*[13] sei hingewiesen.

Über die Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen liegen wohl schon zahlreiche Veröffentlichungen vor. Dabei wurden jedoch fast immer so geringe Mengen verwendet und hiefür geeignete, zum Teil so komplizierte Geräte entwickelt, daß sie für das Anfängerpraktikum nicht in Betracht kommen. Unser Bestreben war, wie schon in der Einleitung hervorgehoben wurde, die organisch-präparative Methodik und die erforderlichen Apparate so zu vereinfachen, daß sie in den allgemeinen Unterrichtsplan aufgenommen werden kann. Für die Forschung, die sehr oft mit kleinen und kleinsten Mengen arbeiten muß, bestehen eine Unzahl von Apparaten und Arbeitsvorschriften, die teilweise gesammelt veröffentlicht wurden.[3, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]

Folgende Präparate wurden mit kleinen Substanzmengen ($^1/_{40}$ Mol) bisher hergestellt und die Arbeitsvorschriften ausgearbeitet: Äthylbromid, Äthyljodid, Benzylchlorid, Brombenzol, Acetylchlorid, Benzoylchlorid, Essigsäureanhydrid, Acetamid, Acetonitril, Essigsäureäthylester, Benzoesäureäthylester, Methylamin, Nitromethan, Nitrobenzol, m-Dinitrobenzol, Anilin, Diphenylthioharnstoff, Phenylhydroxylamin, Hydrazobenzol, Benzidin, β-Naphthalinsulfosäure, Sulfanilsäure, Formaldehyd, Benzoin, Benzil, Mandelsäure, Zimtsäure, Anisol, o- und p-Nitrophenol, Pikrinsäure, p-Tolunitril, Helianthin, p-Nitrosodimethylanilin, Fluorescein, Eosin, Phtalocyanin, Alizarin, Benzhydrol, Triphenylcarbinol, Benzophenon, Chinizarin, Chinolin, Indigo.[22] In fast allen Fällen wurde prozentuell die gleiche Ausbeute erreicht, wie sie von *Gattermann-Wieland*[1] angegeben ist.

Abschließend führen wir für drei Präparate die Arbeitsvorschriften an.

I. Methylamin aus Acetamid (*Hofmann*scher Abbau):

Reagenzien: 0,75 g Acetamid, 2,0 g Brom, Lösung von 1,25 g Kaliumhydroxyd in 9 ccm Wasser, Lösung von 2 g Kaliumhydroxyd in 4 ccm Wasser, 2,5 ccm 5 n-Salzsäure.

0,75 g Acetamid werden in einem Reagenzglas mit 2 g Brom versetzt, dazu unter Kühlung (unter der Wasserleitung) eine Lösung von 1,25 g KOH in 9 ccm Wasser gegeben, bis die Farbe ins Hellgelbe umschlägt. Dabei rühre man mit einem Glasstab um. Nun gießt man das Reaktionsgemisch in eine Lösung von 2 g KOH in 4 ccm Wasser, die in einem Kölbchen auf 70 bis 75° C erwärmt und auf dieser Temperatur gehalten wird, bis das Reaktionsgemisch farblos geworden ist, was gewöhnlich nach 5 Minuten der Fall ist. Man destilliert nun das Methylamin mit Wasserdampf über. Als Vorlage verwendet man ein Erlenmeyerkölbchen, welches mit 5 ccm 5 n-HCl beschickt ist. Die Vorlage steht in einem Becherglas mit kaltem Wasser, der Vorstoß taucht in die Salzsäure ein. Reagiert das Kondensat im Kühler nicht mehr alkalisch, so bricht man die Destillation ab, gießt den Inhalt der Vorlage in eine Porzellanschale und dampft am Wasserbad bis zur Trockene ein. Man gibt den Rückstand in ein Zentrifugengläschen und trocknet unter Vakuum, um die letzten Wasserreste zu entfernen. Das ganz trockene Salz wird mit möglichst wenig abs. Alkohol gelöst und nach dem Zentrifugieren vom Rückstand in ein zweites Gläschen dekantiert. Man engt ein und läßt auskristallisieren. Es wird zentrifugiert, mit wenig Alkohol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 0,4 g Methylammoniumchlorid, Dauer: 2 Stunden.

II. Phtalocyanin:

Reagenzien: 0,25 g Phtalsäureanhydrid, 0,05 g Kupfer-II-chlorid, 1,3 g Harnstoff, 1 Spatelspitze Ammoniummolybdat.

Ein Gemisch der oben angeführten Reagenzien wird im Ölbad $^1/_2$ Stunde bei 180° C Innentemperatur in einem kurzen Reagenzglas erhitzt. Es wird gekühlt, mit verdünnter HCl ausgekocht und zentrifugiert. Es wird dekantiert, der blaue Niederschlag mit verdünnter kalter NaOH aufgewirbelt und zentrifugiert. Nach dem Dekantieren wird nochmals mit verdünnter HCl ausgekocht und anschließend mehrere Male mit Wasser gewaschen. Nach dem letzten Dekantieren werden die Wasserreste mit einem Filterpapierstreifen abgesaugt. Der feuchte Farbstoff wird im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 0,3 g Phtalocyanin, Dauer: $1^1/_2$ Stunden.

III. Chinolin (nach *Skraup*):

Reagenzien: 0,5 g Nitrobenzol, 0,8 g Anilin, 2,5 g wasserfreies Glycerin, 0,8 g Zinkchlorid, 1 ccm konz. Schwefelsäure, 2 n HCl, konz. NaOH, verd. HCl.

In einem 50 ccm-Kölbchen wird das Gemisch von Nitrobenzol, Anilin und Glycerin mit der Schwefelsäure unter Umschütteln versetzt. Man erwärmt vorsichtig über einer klein gestellten Bunsenbrennerflamme bis die Reaktion eintritt. Wenn die Hauptreaktion abgeklungen ist, erhitzt man noch $^1/_2$ Stunde mit aufgesetztem Kühlrohr am Sandbad. Sodann verdünnt man mit wenig Wasser und treibt das nicht in Reaktion getretene Nitrobenzol mit Wasserdampf ab. Der im Kölbchen verbliebene Rückstand wird mit konz. NaOH versetzt und das so in Freiheit gesetzte Chinolin mit unverändertem Anilin mit Wasserdampf überdestilliert. Das im Scheidetrichter befindliche Destillat wird mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung in ein kurzes Reagenzglas gegossen und der Äther abgedunstet. Die zurückbleibenden rohen Basen werden in verdünnter HCl angegebener Konzentration gelöst. Zu der klaren, warmen Lösung gibt man eine Lösung von 0,75 g $ZnCl_2$ in 1,25 ccm 2 n HCl. Nach dem Erkalten kristallisiert das Chinolindoppelsalz aus, welches zentrifugiert und mit 2 n HCl gewaschen

wird. Anschließend zersetzt man mit starker NaOH, gießt in ein 50 ccm-Kölbchen und führt abermals eine Wasserdampfdestillation durch. Man äthert das Destillat aus, trocknet die ätherische Lösung mit festem KOH und destilliert nach dem Verdampfen des Äthers das Chinolin ab. Ausbeute: 0,5 g Chinolin, Dauer: 3 Stunden.

Literaturverzeichnis.

[1] *L. Gattermann* und *H. Wieland*, Die Praxis des organischen Chemikers. Berlin: Verlag W. de Gruyter (1942).

[2] *Pozzi* und *Escot*, Bull. Soc. chim. France (3) **31**, 932 (1904).

[3] *A. Soltys*, Mikrochem., Molisch-Festschrift 393 (1936).

[4] *W. Schöniger*, Mikrochem. **34**, 316 (1949).

[5] *W. Hurka*, Mikrochem. **30**, 193 (1942).

[6] *L. Kofler*, Mikrochem. **15**, 242 (1934).

[7] *L. Kofler* und *A. Kofler*, Mikromethoden, Innsbruck: Universitätsverlag Wagner (1948).

[8] *A. Siwoloboff*, Ber. dtsch. chem. Ges. **19**, 795 (1886).

[9] *G. Gorbach*, Mikrochem. **12**, 161 (1932) und Vorratspflege und Lebensmittelforsch. **3**, 272 (1940).

[10] *W. Halden* und *H. Hinrichs*, Fette und Seifen **49**, 697 (1942).

[11] *H. K. Barrenscheen*, Mikrochem. Acta **1**, 319 (1937).

[12] *C. Weygand*, Organisch-chemische Experimentierkunst, Leipzig: Verlag J. A. Barth (1938).

[13] *F. Pregl*, Mikrochem. **2**, 76 (1924).

[14] *K. Bernhauer*, Einführung in die org. chem. Laboratoriumspraxis, Wien: Verlag Springer (1947).

[15] *A. Dadieu* und *H. Kopper*, Angew. Chem. **50**, 367 (1937).

[16] *E. Pfeil*, Angew. Chem. **54**, 161 (1941).

[17] *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie, München: Verlag Bergmann (1926).

[18] *F. Emich*, Mikrochemisches Praktikum, München: Verlag Bergmann (1924).

[19] *A. Fuchs*, Monatsh. Chem. **43**, 129 (1922).

[20] *A. A. Benedetti-Pichler* und *H. Lieb*, Chem.-techn. Untersuchungsmeth., VIII. Aufl., Erg.-Bd. 1, Berlin: Verlag Springer 268 (1939).

[21] *G. Gorbach*, Mikrochem. Praktikum, Graz, im Selbstverlag (1949).

[22] Die Arbeitsvorschriften wurden als Manuskript veröffentlicht. (Graz, Med.-chem. Inst.)

Buchbesprechungen.

Ernest Baldwin: **Dynamic Aspects of Biochemistry.** Mit 34 Abb. XVIII, 457 S. Cambridge: University Press, 1948. 21 s.

Die Reihe biochemischer Lehrbücher ist hier nicht nur durch eine weitere Auflage vermehrt worden; es besteht ja in dieser Hinsicht, besonders im englischen Sprachgebiet, kein Mangel. Dieser unveränderte Neudruck der 1947 erschienenen 1. Auflage ist an sich schon ein Zeichen dafür, daß dieses Buch in seiner Eigenart einem Bedürfnis entspricht. Hier wird Biochemie gelehrt nicht vom Standpunkt des Organikers, dessen Interesse vor allem der Zusammensetzung und dem Aufbau chemischer Individuen gilt, auch nicht vom Standpunkt des Mediziners, dessen Aufmerksamkeit sich vor allem der klinischen Bedeutung biochemischer Erkenntnisse und Probleme zuwendet. Hier wird die Biochemie vielmehr als selbständige und unabhängige Wissenschaft dargestellt und das Hauptaugenmerk auf das Verhalten der einzelnen Stoffe im somatischen Geschehen gelenkt. Im Hinblick auf die bedeutenden Fortschritte, die besonders auch diesem Zweig der Chemie in den letzten Jahren beschert waren, ist sicherlich eine solche Überblick gewährende Darstellung besonders verdienstvoll.

Der erste Teil ist dem Verhalten und den Eigenschaften der Enzyme sowie der Natur ihrer katalytischen Wirkungsweise vorbehalten, deren wechselseitige Beeinflussung die Grundlage für den geregelten Ablauf aller jener Vorgänge bietet, die unter dem Begriff „Stoffwechsel" zusammengefaßt sind. Diese außerordentlich komplexe und in ihren Zusammenhängen noch lange nicht endgültig erkannte Summe von Einzelreaktionen wird in dem zweiten Teil des Buches nach den daran beteiligten Körperklassen geordnet und dargestellt. Viele Tabellen, Diagramme und Abbildungen erhöhen den Wert des Textes.

Wir halten es für anregend und didaktisch wertvoll, daß sich der Verfasser nicht darauf beschränkt, eine Aufzählung zweifelsfrei erkannter Tatsachen wiederzugeben, sondern in Fällen mangelnder Eindeutigkeit der bisherigen wissenschaftlichen Ergebnisse auch offene Fragen zu diskutieren. Er dient damit sicherlich nicht nur seinen Lesern aus dem Kreis der Studierenden durch Schulung ihrer spekulativen Begabung, sondern letztlich auch der Erzielung neuer Fortschritte der physiologischen Chemie.

M. K. Zacherl-Wien.

H. Biltz und *W. Biltz*: **Ausführung quantitativer Analysen.** 5. Auflage. Mit 49 Textabb. XIX, 434 S. Zürich: S. Hirzel. Vertretung für Österreich: Star-Verlag, Wien. 1947, geb. S 40,—.

Das seit nahezu zwei Dezennien bekannte und bewährte Lehrbuch der anorganischen quantitativen Analyse aus berufenster Feder wird in seiner neuen Auflage vielen Chemikern willkommen sein. Schon der reiche Schatz praktischer Erfahrung, der in dem einleitenden Kapitel über die Geräte, Handgriffe und Reagenzien für quantitatives Arbeiten niedergelegt ist, ver-

leiht dem Buch hohen erzieherischen Wert. In den beiden folgenden Abschnitten über Gravimetrie und Maßanalyse werden die arbeitstechnischen Grundlagen geboten, deren Anwendung auf carbonatische und sulfatische Mineralien und Präparate, Düngemittel, Oxyde, Legierungen, auf die hüttenmännische Untersuchung von Eisensorten, Steinkohle und Koks, sulfidische Erze und Hüttenprodukte, arsen-, antimon- und zinnführende Erze und schließlich auf die Silikatanalyse den übrigen Kapiteln vorbehalten bleibt. Schon diese Aufzählung zeigt, daß vor allem den Laboratorien der anorganisch-chemischen Industrie gedient sein will. Wenn hiermit auch bewußt nur ein Teil der für die anorganische Analyse zur Verfügung stehenden Methoden wiedergegeben ist, die der Ergänzung insbesondere von der physikalisch-chemischen Seite her bedürfen, so zeigt doch gerade dieses Buch deutlich den stetigen Fortschritt auf dem hier bearbeiteten Teilgebiet unserer Wissenschaft.

M. K. Zacherl-Wien.

K. Hanofsky und *P. Artmann*: **Kurze Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse nach dem Schwefelnatriumgange.** 4., völlig umgearbeitete und vermehrte Auflage. Von *P. Artmann*. VIII, 155 S. Wien: F. Deuticke, 1949. S 40,—.

Das vor allem zum Gebrauch beim analytischen Praktikum bestimmte Büchlein weist gegenüber früheren, seit langem vergriffenen Auflagen eine Bereicherung durch Aufnahme einiger seltenerer Elemente auf. Neue Erkenntnisse, die namentlich der Mikrochemie zu verdanken sind, die Anwendung organischer Reagenzien mit ihrer oft erheblichen Steigerung von Empfindlichkeit und Eindeutigkeit, fanden Berücksichtigung. Zu begrüßen ist die sehr weit gehende Verwendung von Ionengleichungen zur Wiedergabe der analytischen Reaktionen. Mehrere Tabellen erleichtern die Handhabung der Anleitungen.

M. K. Zacherl-Wien.

Felix Haurowitz: **Fortschritte der Biochemie 1938—1947.** VIII, 364 S. Basel: S. Karger. 1948, geb. sfr. 40,—.

Die hiermit vorgelegte Fortsetzung der gleichnamigen Berichte aus den Jahren 1925, 1931 und 1938 stellt eine ganz hervorragende Bereicherung unserer Literatur dar, besonders natürlich für das deutsche Sprachgebiet. Das vergangene Jahrzehnt brachte durch die Anwendung moderner Methoden eine Fülle neuer Einblicke in das chemische Geschehen lebender Organismen, an denen teilzuhaben vielen Naturwissenschaftlern verwehrt war. Alle werden das Erscheinen dieses Buches dankbar begrüßen.

Die Darstellung dieses umfassenden Querschnittes erfolgt stets von der Grundlage bekannter Erscheinungen und Tatsachen ausgehend, so daß auch der in den einzelnen Spezialgebieten weniger versierte Leser sogleich die wesentlichen Zusammenhänge erkennt und ohne Schwierigkeiten die Bedeutung der erzielten Forschungsergebnisse zu beurteilen vermag.

Besonders gut scheinen uns die Kapitel über Proteine und Eiweißstoffwechsel gelungen. Die Lektüre des Buches führt in wohltuendem Gegensatz zu manchen Berichten ähnlicher Art nicht zu einer mehr oder weniger mühsamen Aneignung neuen Wissens, sondern wird infolge der höchst anregenden Form des Gebotenen zum genußreichen Studium.

Die Aufnahme eines eigenen Kapitels über Thermodynamik und Kinetik bei biochemischen Reaktionen entspricht der modernen Betrachtungsweise und dem Wert, der auf die höchst schwierige Erforschung der Energieverhältnisse beim Ablauf der Vorgänge in vivo gelegt wird.

Der Verfasser hat es in meisterhafter Weise verstanden, in diesem verhältnismäßig nicht sehr umfangreichen Werk die an zahlreichen Stellen der Literatur niedergelegten Ergebnisse in gesammelter Form so wiederzugeben, daß hieraus der beste Nutzen für jeden interessierten Leser erwächst. Unseres Erachtens bedarf dieses Buch keiner Empfehlung: es spricht für sich selbst!

M. K. Zacherl-Wien.

J. Mitchell, Jr. and *D. M. Smith*: **Aquametry.** Application of the *Karl Fischer* Reagent to Quantitive Analyses Involving Water. Mit 51 Textabb. XII, 444 S. New York: Interscience Publishers, Inc. 1948, geb. $ 8,—.

In der von *Clarke* und *Kolthoff* herausgegebenen Serie von Monographien über analytische Chemie und ihre Anwendung „Chemical Analysis" liegt als 5. Band ein eigenes Werk vor, welches sich ausschließlich mit der Bestimmung des Wassergehaltes mit Hilfe der *Fischer*schen Reaktion beschäftigt. *Fischer* hat erstmalig von der stöchiometrischen Umsetzung des Wassers mit Pyridin-Schwefeldioxyd und elementarem Jod und dem dabei auftretenden Farbwechsel für die maßanalytische Bestimmung des Wassers Gebrauch gemacht. Es gelang ihm damit nicht nur, geringste Feuchtigkeitsspuren verschiedenartigster Substanzen quantitativ zu bestimmen, sondern auch z. B. den Kristallwassergehalt fester Stoffe durch Suspension in absolutem Methanol und nachfolgender Titration genau zu erfassen. Gegenüber früheren Methoden der Wasserbestimmung erweist sich dieses Verfahren überlegen. Da sich der Endpunkt der Titration überdies auch potentiometrisch feststellen läßt, eignet sich diese Methode auch zur Analyse gefärbter Lösungen.

Darüber hinaus aber lassen sich organische Umsetzungen, die unter Wasserabspaltung vor sich gehen, quantitativ verfolgen und das *Fischer*-Reagens eignet sich somit auch zur Bestimmung zahlreicher funktioneller Gruppen in organischen Molekülen.

Das Verdienst der Verfasser ist es, unter Zugrundelegung der sehr umfangreichen Literatur und zahlreicher eigener Untersuchungen eine umfassende Darstellung dieser Arbeitsweise und ihrer Anwendungsmöglichkeiten gegeben zu haben. Außer einer summarischen Übersicht wird jedes einzelne mit diesem Reagens durchführbare Verfahren im Detail besprochen, womit für den Analytiker eine sehr wesentliche Hilfe geboten wird. Wir sind überzeugt, daß dieses Buch geeignet ist, der eminent praktischen Bedeutung dieser Methodik in jeder Hinsicht gerecht zu werden. *M. K. Zacherl*-Wien.

V. Patzelt: **Anleitung zu mikroskopischen Untersuchungen.** VIII, 48 S. Wien: Urban u. Schwarzenberg, 1948. S 12,—.

Das von dem Vorstand des Wr. histologischen Univ.-Instituts herausgebrachte Büchlein will vor allem als Grundlage für praktische Übungen dienen. Es nimmt vielfach Bezug auf das bekannte Lehrbuch der Histologie des Verfassers. Das Vertrautsein mit dem Mikroskop wird z. T. von Studenten der Medizin, der Biologie und anderer Naturwissenschaften zu wenig erstrebt. Die Kenntnis der Leistungsfähigkeit dieser Instrumente ist aber Voraussetzung zu ihrer zweckmäßigen Verwendung. Eingehendes Studium der hier vorliegenden Anleitungen kann daher nur nutzbringend sein. Die mikroskopische Technik sowie die Herstellung und Untersuchung mikroskopischer Präparate wird in eigenen Abschnitten eingehend geschildert. Am Schluß folgt eine Zusammenstellung gebräuchlicher Fixierungsmittel und Farbstofflösungen. *M. K. Zacherl*-Wien.

F. Vieböck: **Analysengang zur Erkennung von Arzneimitteln.** 2., durchgesehene Auflage. Mit 27 im Satz enthaltenen Tab. VIII, 328 S. Wien: F. Deuticke. 1949, geb. S 40,—.

Die neue Auflage des innerhalb weniger Jahre vergriffenen Buches brachte nur geringfügige Änderungen. Diese Tatsache wird vom Verfasser einerseits durch zeitbedingte Hindernisse und anderseits damit gerechtfertigt, daß der Zweck des Buches in erster Linie ein didaktischer sei. Dies hat zur Folge, daß gewisse, von Seiten der Praktiker geäußerte Wünsche unberücksichtigt geblieben sind und daß viele seit dem ersten Erscheinen neu eingeführte Arzneimittel nicht namentlich angeführt und in den Untersuchungsgang eingebaut sind. Man wird dem Verfasser zubilligen können, daß dies für den Erfahrenen keine allzu großen Schwierigkeiten mit sich bringt.

Wie bisher ist das Buch in zwei Hauptabschnitte geteilt: den eigentlichen Analysengang und die spezielle Besprechung der einzelnen Arzneimittel und ihres analytischen Verhaltens. Die Übersichtlichkeit hätte unseres Erachtens allerdings durch die Voranstellung einer Inhaltsübersicht sehr erheblich gewonnen. Ohne besondere Erweiterung des Umfanges könnte wohl auch der reiche Erfahrungsschatz an physikalischen Daten mit eingebaut werden, den *Kofler* und seine Schule uns durch ihre Untersuchungen auf dem Heiztisch unter dem Mikroskop gebracht haben. In vielen Fällen dürfte damit das analytische Resultat einfach und sicher zu erzielen sein. Damit wäre wohl gleichzeitig auch eine sehr vorteilhafte Ergänzung der Ausbildung der Studierenden verbunden; schließlich aber gewänne auch der Praktiker daraus nicht unerheblichen Nutzen.

Dies hindert nicht, den sorgfältigen Ausbau der pharmazeutischen Analytik mit Hilfe chemischer Reaktionen ungeschmälert anzuerkennen, der Ausdruck der eingehenden Erfahrung des Verfassers ist und der schließlich die Ursache für die große Beliebtheit des Buches darstellt.

M. K. Zacherl-Wien.

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften.

Österreichische Gesellschaft für Mikrochemie.

Am Freitag, dem 29. April 1949, fand im Hörsaal des Institutes für biochemische Technologie und Lebensmittelchemie der Technischen Hochschule in Graz ein Vortrag des Herrn Dr. Ing. *W. Bacher*, Veitscher Magnesit-Werke, statt. Der Vortragende berichtete über „Die Anwendung der Mikrochemie im neuzeitlichen Forschungs- und Betriebslaboratorium" und zeigte die großen Vorteile dieser Arbeitsrichtung auf. Er illustrierte seine Ausführungen mit Bildern in natürlichen Farben aus seinem derzeitigen Arbeitsbereich. Der Vortragende bedauerte, daß die Mikrochemie sich derzeit im Ausland einer weit größeren Förderung und Verbreitung erfreue als in Österreich, von wo sie ihren Ausgang nahm. — Der Vortrag, der vom Präsidenten der Gesellschaft, Herrn Professor Dr. *Hans Lieb*, einbegleitet wurde, gab Anlaß zu lebhafter Diskussion. Dipl.-Ing. *Hans Spitzy*, stellv. Sekretär.

Herausgeber und Eigentümer: Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien XIX, Chimanistraße 21.
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien IX, Lustkandlgasse 52.